

**Министерство образования и науки Российской Федерации**  
**федеральное государственное автономное образовательное учреждение**  
**высшего образования**  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ**  
**ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

---

Институт неразрушающего контроля  
 Направление подготовки 12.04.04. «Биотехнические системы и технологии»  
 Кафедра промышленной и медицинской электроники

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Тема работы
<b>«Разработка метода и устройства для исследования агрегации эритроцитов в микрообъемах»</b>

УДК 616-71

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1ДМ41	Литвинова Светлана Андреевна		

Руководитель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Аристов Александр Александрович	к.т.н., доцент		

**КОНСУЛЬТАНТЫ:**

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Конотопский Владимир Юрьевич	к.э.н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Анищенко Юлия Владимировна	к.т.н., доцент		

**ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:**

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
ПМЭ	Губарев Федор Александрович	к. ф.-м. н., доцент		

Томск – 2016 г.

## Планируемые результаты обучения ПО ООП

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)	Требования ФГОС, критериев и/или заинтересованных сторон
<i>Профессиональные компетенции</i>		
P1	Применять глубокие специальные естественнонаучные, математические, социально-экономические и профессиональные знания в инновационной инженерной деятельности при разработке, производстве, исследовании, эксплуатации, обслуживании и ремонте современной биомедицинской и экологической техники	Требования ФГОС (ОК-2, ОПК-2) <sup>1</sup> , Критерий 5 АИОР (п. 5.2.1), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P2	Ставить и решать инновационные задачи инженерного анализа и синтеза с использованием специальных знаний, современных аналитических методов и моделей	Требования ФГОС (ОПК-1, 3; ПК-1 – 4), Критерий 5 АИОР (п. 5.2.2), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P3	Выбирать и использовать необходимое оборудование, инструменты и технологии для ведения инновационной практической инженерной деятельности с учетом экономических, экологических, социальных и иных ограничений	Требования ФГОС (ОК-9, ПК-10, 14, 18). Критерий 5 АИОР (пп. 5.2.3, 5.2.5), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P4	Выполнять комплексные инженерные проекты по разработке высокоэффективной биомедицинской и экологической техники конкурентоспособной на мировом рынке	Требования ФГОС (ОК-2, 3; ПК-5 – 11, 14), Критерий 5 АИОР (пп. 5.2.3, 5.2.5), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P5	Проводить комплексные инженерные исследования, включая поиск необходимой информации, эксперимент, анализ и интерпретацию данных с применением глубоких специальных знаний и современных методов для достижения требуемых результатов в сложных и неопределенных условиях	Требования ФГОС (ОК-2, 3; ОПК-5, ПК-1 – 4). Критерий 5 АИОР (пп. 5.2.2, 5.2.4), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P6	Внедрять, эксплуатировать и обслуживать современное высокотехнологичное оборудование в предметной сфере биотехнических систем и технологий, обеспечивать его высокую эффективность, соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда, выполнять требования по защите окружающей среды	Требования ФГОС (ОПК-1, 2), Критерий 5 АИОР (пп. 5.2.5, 5.2.6), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
<i>Универсальные компетенции</i>		
P7	Использовать глубокие знания в области проектного менеджмента для ведения инновационной инженерной деятельности с учетом юридических аспектов защиты интеллектуальной собственности	Требования ФГОС (ОПК-2; ПК-14, 15). Критерий 5 АИОР (п. 5.3.1), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>

P8	Владеть иностранным языком на уровне, позволяющем активно осуществлять коммуникации в профессиональной среде и в обществе, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инновационной инженерной деятельности	Требования ФГОС (ОК-1), Критерий 5 АИОР (п. 5.3.2), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P9	Эффективно работать индивидуально и в качестве члена и руководителя команды, состоящей из специалистов различных направлений и квалификаций, с делением ответственности и полномочий при решении инновационных инженерных задач	Требования ФГОС (ОК-3, ОПК-3; ПК-3, 12, 13), Критерий 5 АИОР (п. 5.3.3), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P10	Демонстрировать личную ответственность, приверженность и готовность следовать профессиональной этике и нормам ведения инновационной инженерной деятельности	Критерий 5 АИОР (п. 5.3.4), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P11	Демонстрировать глубокие знание правовых, социальных, экологических и культурных аспектов инновационной инженерной деятельности, компетентность в вопросах охраны здоровья и безопасности жизнедеятельности	Критерий 5 АИОР (п. 5.3.5), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>
P12	Самостоятельно учиться и непрерывно повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности	Требования ФГОС (ОК-2, 4; ОПК-4), Критерий 5 АИОР (п.5.3.6), согласованный с требованиями международных стандартов <i>EUR-ACE</i> и <i>FEANI</i>

**Министерство образования и науки Российской Федерации**  
 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
 высшего профессионального образования  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт неразрушающего контроля

Направление подготовки (специальность): биотехнические системы и технологии

Уровень образования: Магистр

Кафедра промышленной и медицинской электроники

Период выполнения (осенний/весенний семестр 2015/2016 учебного года)

Форма представления работы:

<b>Магистерская диссертация</b>
---------------------------------

**КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН**  
**Выполнения выпускной квалификационной работы**

Срок сдачи студентом выполняемой работы:	
--	--

Дата контроля	Название раздела модуля)/ вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
18.01.2016	Введение	<b>8</b>
01.02.2016	1.1.Кровь, как объект лабораторного анализа 1.2. Форменные элементы крови 1.3. Реологические свойства крови	<b>8</b>
20.02.2016	1.4.Физико-химические основы механизмов агрегации 1.5. Методы оценки агрегации эритроцитов, применяемые в клинической практике и экспериментальной медицине 1.6. Агрегация эритроцитов при различных патологических состояниях	<b>8</b>
25.02.2016	2.1. Применение капельной методики 2.2. Устройство для проведения экспериментальных исследований	<b>10</b>
12.03.2016	2.3. Система получения сдвиговых деформаций	<b>10</b>
10.04.2016	3. Экспериментальные исследования 3.1. Изменение светопропускания суспензии эритроцитов	<b>10</b>
20.04.2016	3.2. Определение оптимальных	

	параметров оптической измерительной системы для проведения измерений 3.3. Использование желатина, в качестве модифицирующего агрегацию агента	<b>12</b>
05.05.2016	3.4. Скорость седиментации эритроцитов как косвенный показатель скорости агрегации эритроцитов 3.5. Определение оптимальных параметров системы сдвиговых деформаций 3.6. Исследования крепости агрегатов	<b>12</b>
20.05.2016	5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективности ресурсосбережение	<b>8</b>
23.05.2016	5. Социальная ответственность	<b>8</b>
28.05.2016	Заключение	<b>6</b>

Составил преподаватель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Аристов Александр Александрович	к.т.н., доцент		

**СОГЛАСОВАНО:**

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
ПМЭ	Губарев Федор Александрович	к. ф.-м. н., доцент		

**Министерство образования и науки Российской Федерации**  
федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт неразрушающего контроля  
Направление подготовки - 12.04.04 Биотехнические системы и технологии  
Кафедра промышленной и медицинской электроники

УТВЕРЖДАЮ:

Зав. кафедрой

\_\_\_\_\_ Ф.А. Губарев  
(Подпись) (Дата)

**ЗАДАНИЕ**  
**на выполнение выпускной квалификационной работы**

В форме:

Магистерской диссертации
--------------------------

Студенту:

Группа	ФИО
1ДМ41	Литвиновой Светлане Андреевне

Тема работы:

Разработка метода и устройства для исследования агрегации эритроцитов в микрообъемах	
Утверждена приказом директора ИНК (дата, номер)	№ 3339/с от 04.05.2016 г.

Срок сдачи студентом выполненной работы:

**ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:**

**Исходные данные к работе**

*(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).*

1. Использование фотометрического метода для оценки процесса агрегации эритроцитов;
2. Объем требуемой для анализа крови не более 20 мкл;
3. Устройство должно содержать устройство для дезагрегации эритроцитарной суспензии;
4. Использование исследование динамики агрегации;
5. Специфичность методики к процессу агрегации;
6. Возможность контроля сдвиговых агрегаций;
7. Методика должна основываться на стандартных методах подготовки крови.

<p><b>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</b></p> <p><i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p>	<p>Литературный и патентный обзор, технические условия необходимые для оценки агрегатообразования, конструкция и режим работы виброустановки, экспериментальные фотометрические исследования образцов крови, технико-экономическое обоснование НИОКР, производственная и экологическая безопасность.</p>
<p><b>Перечень графического материала</b></p> <p><i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p>	<p>Презентация в PowerPoint</p>
<p><b>Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы</b></p> <p><i>(с указанием разделов)</i></p>	
<p><b>Раздел</b></p>	<p><b>Консультант</b></p>
<p>Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</p>	<p>Конотопский Владимир Юрьевич, к.э.н., доцент</p>
<p>Социальная ответственность</p>	<p>Анищенко Юлия Владимировна, к.т.н., доцент</p>
<p><b>Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:</b></p>	
<p>Агрегация эритроцитов Описание фотометрической установки Экспериментальные исследования</p>	

<p><b>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</b></p>	<p>08.02.16</p>
--	-----------------

**Задание выдал руководитель:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Аристов Александр Александрович	к.т.н., доцент		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1ДМ41	Литвинова Светлана Андреевна		

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа 122 с., 34 рис., 21 табл., 45 источников, 1 приложение.

Ключевые слова: кровь, эритроциты, агрегация, дезагрегация, фотометрические исследования, сдвиговые деформации.

Объектом исследования является метод объективной оценки процесса образования эритроцитарных агрегатов.

Цель работы – разработка теоретических и практических основ для создания устройства, предназначенного для оценки агрегации.

В процессе исследования проводились патентный и литературный обзоры, экспериментальные исследования.

В результате экспериментальных исследований доказан факт, что фотометрирование образца крови с помощью предложенных технических решений позволяет осуществить оценку агрегации эритроцитов человека *invitro*.

Основные конструктивные, технологические и технико-эксплуатационные характеристики:

Условия эксплуатации - лабораторные

Степень внедрения: лабораторный макет

Область применения: медицинские учреждения

Экономическая эффективность/значимость работы позволяет сэкономить время проведения исследований, уменьшить объем исследуемой пробы, а также уменьшить затраты на обслуживание оборудования и стоимость прибора.

В будущем планируется создание устройства для количественной и качественной оценки агрегации эритроцитов и кинетики агрегатообразования.



## Содержание

Введение	11
ГЛАВА 1. Агрегация эритроцитов	13
1.1. Кровь, как объект лабораторного анализа	13
1.2. Форменные элементы крови	15
1.3. Реологические свойства крови	19
1.4. Физико-химические основы механизмов агрегации	23
1.5. Методы оценки агрегации эритроцитов, применяемые в клинической практике и экспериментальной медицине	27
1.6. Агрегация эритроцитов при различных патологических состояниях	41
ГЛАВА 2. Описание фотометрической установки	48
2.1. Применение капельной методики	48
2.2. Устройство для проведения экспериментальных исследований	50
2.3. Система получения сдвиговых деформаций	53
2.3.1. Скорость сдвига	53
2.3.2. Лабораторный макет системы сдвиговых деформаций	54
ГЛАВА 3. Экспериментальные исследования	56
3.1. Изменение светопропускания суспензии эритроцитов	56
3.1.1. Технологическая схема экспериментальных исследований	58
3.1.2. Изменение светопропускания при добавлении декстрана в разных объемах	60
3.2. Определение оптимальных параметров оптической измерительной системы для проведения измерений	61
3.3. Использование желатина, в качестве модифицирующего агрегацию агента	64
3.4. Скорость седиментации эритроцитов как косвенный показатель скорости агрегации эритроцитов	65

3.5. Определение оптимальных параметров системы сдвиговых деформаций	66
3.6. Исследования крепости агрегатов	69
ГЛАВА 4. Социальная ответственность	71
4.1. Производственная социальная безопасность	73
4.2. Экологическая безопасность	79
4.3. Безопасность в чрезвычайных ситуациях	80
4.4. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	82
ГЛАВА 5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	86
5.1. Организация и планирование работ	87
5.2. Расчет сметы затрат на выполнение проекта	95
5.3. Оценка экономической эффективности проекта	102
Заключение	104
Список используемых источников	106
Приложение А	111

## **Введение**

### **Актуальность работы**

Изучение реологических свойств крови всегда привлекало интерес ученых. Этот интерес вызван тем, что подавляющее большинство заболеваний связано с изменениями состава и биофизических свойств крови. Основным фактором, определяющим реологические показатели крови, являются эритроциты, которые составляют 98% от общего объема форменных элементов крови. В механизме зарождения и развития болезни большое значение играют гемореологические нарушения. Агрегацией эритроцитов называют способность эритроцитов формировать “монетные столбики”, форма которых зависит от нормальных или патологических условий [1]. Оценка агрегации эритроцитарной суспензии позволяет сделать заключение о состоянии здоровья пациента.

Наиболее распространенными методами исследования процессов агрегации в клинической практике являются фотометрические методы. Основой фотометрического метода регистрации является измерение интенсивности светового потока, рассеиваемого кровью в процессе роста эритроцитарных агрегатов, после прекращения перемешивания исследуемого образца в специальных кюветах [2].

Существующие приборы, способные регистрировать степень агрегации эритроцитов, имеют ряд недостатков, таких как ошибочные результаты, трудности в интерпретации данных и большой объем крови, используемой при диагностике. Таким образом, разработка точного и стандартизированного прибора для оценки степени агрегации эритроцитов является актуальной задачей на сегодняшний день.

### **Цель работы**

Разработка теоретических и практических аспектов по созданию устройства для оценки агрегации эритроцитов

**Задачи исследования:**

1. Изучение существующих методов исследования механизма агрегатообразования;
2. Обзор технических решений по оценке агрегатообразования;
3. Экспериментальные исследования по изучению прохождения света через кровь для выработки методики по оценке агрегации эритроцитов;
4. Экспериментальные фотометрические исследования эритроцитарной суспензии с помощью лабораторной установки;
5. Выработка технических условий к устройству.

**Предметом исследования** является метод оценки агрегации эритроцитов человека *invitro* на основе фотометрического метода.

**Апробация результатов работы.** Основные результаты диссертации опубликованы и докладывались автором на следующих конференциях:

IV Всероссийский молодежный Форум с международным участием «Инженерия для освоения космоса», 12-14 апреля 2016 г., г. Томск.

## **ГЛАВА 1. Агрегация эритроцитов**

### **1.1. Кровь, как объект лабораторного анализа**

Кровь представляет собой жидкость, алого цвета, с солоноватым вкусом, удельный вес которой составляет 1,054-1,066. Общий объем крови у взрослого в среднем составляет около 5 л или 1/13 веса тела. Совместно с лимфой и тканевой жидкостью кровь образует внутреннюю среду организма. Кровь выполняет различные функции.

Кровь отвечает за важную функцию в обмене веществ: она разносит питательные вещества по тканям всех органов и выводит оттуда продукты распада. Питательные вещества поступают в кровь путем всасывания их в тонкой кишке. Продукты распада выводятся из крови через органы выделения.

Кровь играет важную роль в дыхании: она разносит кислород по тканям всех органов и выводит углекислоту. Кислород в кровь поступает через легкие. Углекислота преимущественно выводится из крови также через легкие.

Кровь выполняет гуморальную регуляцию деятельности различных органов: она разносит по всему организму необходимые различные вещества (гормоны и др.), которые в одних случаях вызывают активацию, в других - торможение работы органов.

Кровь также отвечает за защитную функцию: в ней содержатся клетки, обладающие свойством фагоцитоза, и особые вещества - антитела, выполняющие защитную роль.

Кровь принимает участие в распространении тепла внутри организма и в поддержании постоянной температуры тела. Движение крови по сосудам обеспечивает тепло все части тела, от мест, где его больше, туда, где его меньше. Излишек тепла кровь отдает в окружающую среду. В связи с этим не происходит перегревания организма.

Постоянство свойств и состава крови является необходимым условием жизнедеятельности всех тканей организма. У человека и других теплокровных животных обмен веществ в клетках, между клетками и тканевой жидкостью, а также между тканями (тканевой жидкостью) и кровью происходит нормально.

при постоянстве внутренней среды организма (лимфа, тканевая жидкость, кровь).

При наличии воспалительных процессов наблюдаются различные изменения обмена веществ в клетках и тканях, и в связи с этим изменяется состав и свойства крови. По характеру подобных изменений можно с большой вероятностью говорить о самой болезни. Поэтому при похожем медицинском исследовании производят анализ крови.

### **Состав крови**

Кровь состоит из жидкой части - плазмы и взвешенных в ней клеток - форменных элементов: эритроцитов (красных кровяных телец), лейкоцитов (белых кровяных телец) и тромбоцитов (кровяных пластинок). Доля плазмы составляет около 55%, форменных элементов - 45%. Общее количество крови в организме взрослого человека - около 6-8% массы тела, т. е. примерно 4,5-6 л. Потеря 1/3 объема крови может привести к его гибели.

Объем циркулирующей крови относительно постоянен, несмотря на непрерывное всасывание воды из желудка и кишечника. Это объясняется строгим балансом между поступлением и выделением воды (например, при введении в сосуды кровезамещающей жидкости), часть её выводится почками немедленно, а большая часть переходит в ткани, откуда постепенно возвращается в кровь и выделяется почками.

Осмотическое давление крови, лимфы и тканевой жидкости определяет обмен воды между кровью и тканями. Изменение осмотического давления жидкости, окружающей клетки, ведет к нарушениям в них водного обмена[3].

## 1.2. Форменные элементы крови

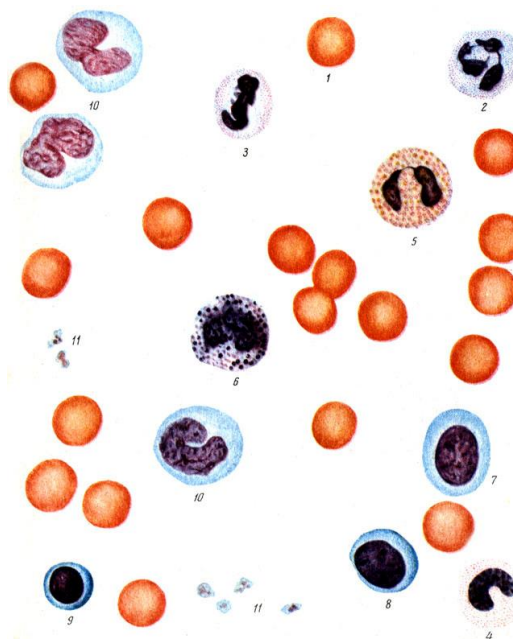


Рисунок 1.1 - Мазок крови человека. 1 - эритроцит; 2 - сегментоядерный нейтрофил; 3 - палочкоядерный нейтрофил; 4 - юный нейтрофил; 5 - эозинофил; 6 - базофил; 7, 8, 9 - лимфоциты; 10 - моноциты; 11 – тромбоциты.

Эритроциты это красные кровяные клетки. Они имеют форму двояковогнутых дисков. Подобная форма в 1.5 раза увеличивает поверхность клетки. Гемоглобин представляет собой сложное органическое соединение, входящее в состав цитоплазмы. Он состоит из белка глобина и пигмента крови гема, в состав которого входит железо.

Основной функцией эритроцитов является перенос кислорода из легких к тканям тела и двуокиси углерода (углекислого газа) в обратном направлении. Развиваются эритроциты из ядерных клеток в красном костном мозге губчатого вещества кости. На протяжении созревания они теряют ядро и отправляются в кровь. 1мм<sup>2</sup> крови взрослого человека включает в себя от 4 до 5 млн. эритроцитов.

Жизненный цикл эритроцитов составляет 120-130 дней. Эритроциты разрушаются в печени и селезенке, и из гемоглобина образуется пигмент желчи.

Лейкоциты представляют собой белые кровяные тела. Они не имеют ядра но не имеют постоянной формы. 1 мм<sup>2</sup> крови взрослого человека содержит 6-8 тысяч лейкоцитов.

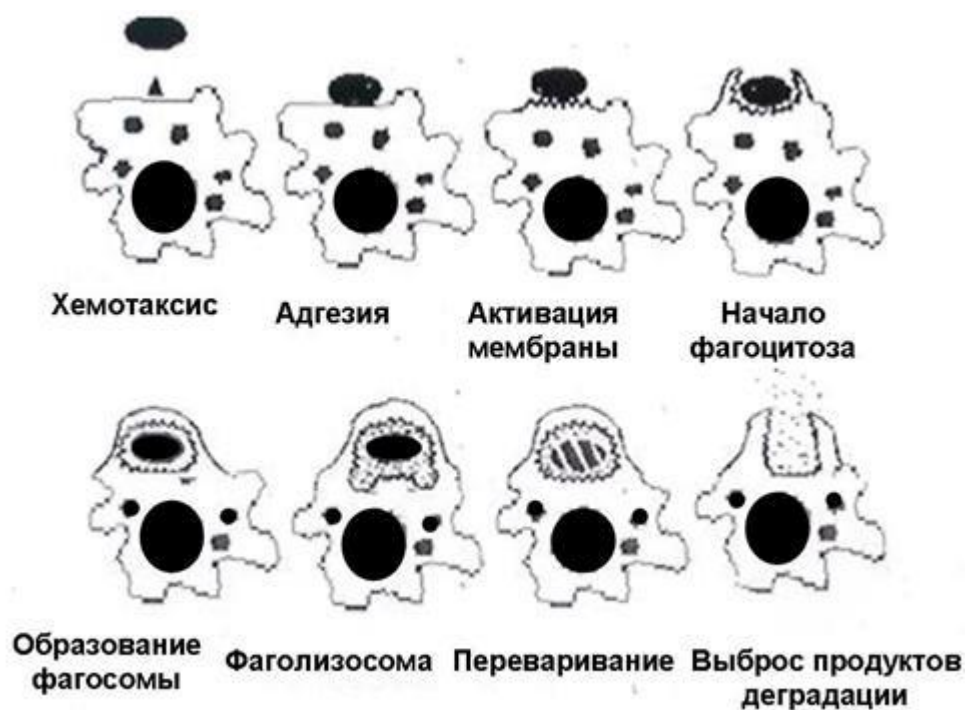
Лейкоциты образуются в лимфатических узлах, красном костном мозге, и селезенке.

Жизненный цикл лейкоцитов составляет 2-4 дня. Затем они разрушаются в селезенке.

Основной функцией лейкоцитов является защита организма от бактерий, инородных тел, чужеродных белков. Амеодно двигаясь, лейкоциты проходят через стенки капилляров и поступают в межклеточное пространство. Они чувствительны к химическому составу веществ, которые выделяют микробы или распавшиеся клетки организма, и направляются к распавшимся клеткам или веществам. Достигнув чужеродное тело, лейкоциты своими ложноножками обволакивают их и затягивают внутрь клетки, где с помощью ферментов они расщепляются.

У лейкоцитов есть способность к внутриклеточному пищеварению. Во время взаимодействия с инородными телами многие клетки погибают. Притом вокруг чужеродного тела скапливаются продукты распада, и вследствие образуется гной. Лейкоциты, которые захватывают различные организмы и переваривают их, И.И. Мечников назвал фагоцитами, а сам процесс поглощения и переваривания – фагоцитозом (поглощающим). Фагоцитоз является защитной реакцией организма.





по Ройту А., 1991

Рисунок 1.2 - Последовательность событий при завершеном фагоцитозе

Тромбоциты или кровяные пластинки представляют собой безъядерные, бесцветные клетки округлой формы. Тромбоциты играют важную роль в процессе свертывания крови. На 1 литр крови человека приходится от 180 до 400 тыс. пластинок. Тромбоциты легко разрушаются при повреждении кровеносных сосудов. Образуются тромбоциты в красном костном мозге.

Форменные элементы крови, помимо вышеуказанного, выполняют очень важную роль в организме человека: при переливании крови, свертывании, а также в выработке антител и фагоцитозе[4].

Морфологические характеристики клеток крови обобщены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 - Морфологические характеристики клеток крови[5]

	Объемная концентрация (%)	Численная концентрация (кол-во клеток/мм <sup>3</sup> )	Форма	Типичные размеры (мкм)	Объем (мкм <sup>3</sup> )
Эритроциты	46	$(4,2 - 4,8) \cdot 10^6$	двояковогнутая дискоидальная	$7,1 \div 9,2 \cdot 1,7 \div 2,4$	$70 \div 100$

Лейкоциты	1,2	$(4 - 8) \cdot 10^3$	сферическая	$8 \div 22$	
Тромбоциты	0,3	$(2,5 - 5) \cdot 10^5$	дискоидальная	$2 \div 4$	6

Между форменными элементами и плазмой крови существуют определенные объемные соотношения. Доля форменных элементов составляет 40 – 45% крови, доля плазмы – 55 – 60% .

Объем циркулирующей крови относительно постоянен, не смотря на то, что происходит непрерывное всасывание воды из кишечника и желудка. Это объясняется строжайшим балансом между выделением и поступлением воды, некоторая часть жидкости выводится почками сразу, а большая часть поступает в ткани. Из тканей вода постепенно возвращается в кровь, а потом выделяется почками.

Обмен воды между тканями и кровью определяет осмотическое давление тканевой жидкости, лимфы и крови. Изменение осмотического давления жидкости, окружающей клетки, вызывает нарушения водного обмена в них[6].

Плазма крови состоит из 90–92% воды и 8–10% сухого вещества, в основном это белки и соли. Плазма содержит ряд белков, отличающихся по своему функциональному значению и составу - это альбумины (около 4,5%), глобулины (2–3%) и фибриноген (0,2–0,4%). Количество белка, содержащееся в плазме крови человека, составляет около 7–8% (табл. 1.2). Оставшуюся часть плотного остатка плазмы составляют другие органические соединения и минеральные соли.

Таблица 1.2 - Концентрация белковых компонентов в плазме крови

Показатели	Значение, г/л
Общий белок	65 – 85
альбумины	38 – 50
$\alpha_1$ -глобулины	1,4 – 3,0
$\alpha_2$ -глобулины	5,6 – 9,1

$\beta$ -глобулины	5,4 – 9,1
$\gamma$ -глобулины	9,1 – 14,7
фибриноген	2,0 – 4,0

Плазма также содержит небелковые азотсодержащие соединения. Такие как аминокислоты и полипептиды. Они всасываются в пищеварительном тракте и используются клетками для синтеза белков. Наряду с ними в крови содержатся продукты распада нуклеиновых кислот и белков – мочевины, креатин, креатинин, мочевая кислота. Они подлежат выведению из организма.

В составе плазмы входят также и безазотистые органические вещества. Это - глюкоза 4,4–6,7 ммоль/л, и липиды и нейтральные жиры.

Объем минеральных веществ в плазме крови составляет около 9%. Большую часть составляют катионы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , и анионы  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  (табл. 1.3).

Таблица 1.3 - Концентрация основных минеральных компонентов плазмы крови и эритроцитов человека

Показатели	Плазма	Эритроциты
$\text{Na}^+$ , ммоль/л	135 – 155	21 – 41
$\text{K}^+$ , ммоль/л	2,6 – 5,6	77 – 103
$\text{Ca}^{2+}$ , ммоль/л	2,0 – 2,75	0,1 – 0,5
$\text{Mg}^{2+}$ , ммоль/л	0,7 – 1,0	1,75 – 2,25
$\text{Cl}^-$ , ммоль/л	98,6 – 107	50,7 – 56,3
$\text{HCO}_3^-$ , ммоль/л	23 – 33	13 – 18
$\text{HPO}_4^{2-}$ , ммоль/л	1	–
$\text{SO}_4^{2-}$ , ммоль/л	0,5	–

Заклученный в эритроцитах белок гемоглобин осуществляет доставку кровью кислорода ко всем тканям и органам. Содержание гемоглобина в крови составляет 17 г/100 мл. Однако, осуществление кислород переноса, а также и

всех остальных функций крови заключается не только в свойствах отдельных эритроцитов, но в комплексном взаимодействии всех компонентов крови [7].

### 1.3. Реологические свойства крови

Кровь является типичной неньютоновской жидкостью. Реология крови рассматривает механические закономерности и в особенности нарушения физколлоидных свойств крови в процессе кровотока с разной скоростью и на различных участках сосудистого русла. Скоротительная способность сердца функциональное состояние кровеносного русла, свойства самой крови определяют движение крови в организме. При небольших линейных скоростях сдвига частицы крови смещаются параллельно друг к другу и оси сосуда. В таком случае поток крови имеет слоистый характер, такое течение называют ламинарным [8].

В случае если линейная скорость увеличивается и превышает определенную величину, разную для каждого сосуда, ламинарное течение превращается турбулентное. Турбулентное течение представляет собой беспорядочное, вихревое течение частиц крови.

Вязкость крови равна отношению напряжения сдвига к скорости сдвига. Измеряется вязкость в мПас. Вязкость цельной крови зависит от скорости сдвига в диапазоне  $0,1 — 120 \text{ с}^{-1}$ . При скорости сдвига больше  $100 \text{ с}^{-1}$  изменения вязкости не существенны, а после того как скорость сдвига достигает  $200 \text{ с}^{-1}$  вязкость крови практически постоянна [5].

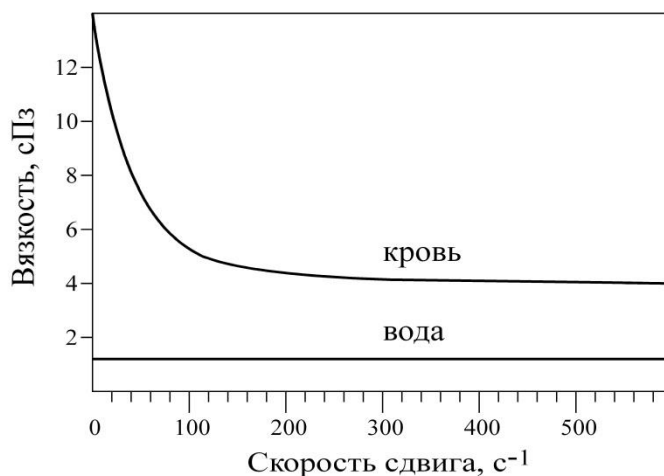


Рисунок 1.3 - Реологические свойства крови

Объемная концентрация эритроцитов, т.е. их содержание и средний объем, является основным фактором определяющим вязкость крови. Объемную концентрацию эритроцитов называют гематокритом. Она определяется путем центрифугирования пробы. Гематокрит составляет примерно 0,4 — 0,5 л/л. При агрегации крови вязкость ее увеличивается, что показывает неньютоновское поведение цельной крови, это свойство определяется агрегационной способностью красных кровяных коеток. Физиологическая агрегация эритроцитов является обратимым процессом. В здоровом организме непрерывно происходит динамический процесс «агрегация – дезагрегация». Дезагрегация в организме доминирует над агрегацией.

Способность эритроцитов формировать агрегаты зависит от следующих факторов: гемодинамических, плазменных, электростатических, механических и др. На сегодняшний день существует несколько теорий, способных объяснить механизм агрегатообразования. Наиболее популярной в наше время является теория мостикового механизма. Согласно данной теории на поверхности эритроцита адсорбируются мостики из фибриногена или других крупномолекулярных белков, в частности Y-глобулинов. Эти белки при уменьшении сил сдвиговых деформаций активизируют агрегацию эритроцитов. Чистая сила агрегации является разностью между силой в мостиках, силой электростатического отталкивания отрицательно заряженных эритроцитов и сдвиговой силой, вызывающей дезагрегацию. Механизм фиксации на эритроцитах отрицательно заряженных макромолекул: фибриногена, Y-глобулинов — пока не вполне понятен. Вполне вероятно, что объединение молекул происходит за счет слабых водородных связей и дисперсных сил Ван-дер-Ваальса.

Следующей теорией, объясняющей агрегацию эритроцитов является «истощение», т.е. отсутствие высокомолекулярных белков вблизи эритроцитов, в результате этого появляется «давление взаимодействия», похожее на осмотическое давление макромолекулярного раствора, в результате это приводит к сближению суспендированных частиц. Также существует теория,

которая объясняет агрегацию эритроцитов собственно эритроцитарными факторами. Они приводят к уменьшению дзета-потенциала эритроцитов и изменению их метаболизма и формы.

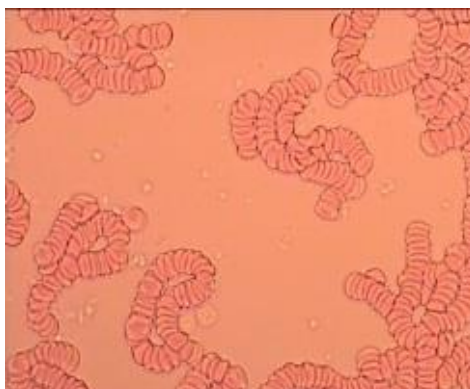


Рисунок 1.4 - Эритроцитарные агрегаты («монетные столбики»)

В результате, можно сделать вывод, что вследствие взаимосвязи между вязкостью крови и ее агрегационной способностью для оценки реологических свойств крови необходимо комплексно анализировать данные показатели. Наиболее доступным и широко распространенным методом измерения агрегации эритроцитов является оценка скорости седиментации эритроцитов. Но к сожалению, в своем традиционном варианте данный тест является малоинформативным, так как не учитывает реологические показатели цельной крови.

Реологические свойства крови определяются различными факторами, которые условно подразделяются на гемодинамические, клеточные, плазменные, факторы взаимодействия и внешних условий [7]. Форменные элементы играют ключевую роль в формировании реологического поведения крови. И прежде всего это эритроциты. Внутриэритроцитарная жидкость, включающая гемоглобин, имеет вязкость около 7 сПз, это значительно выше, чем вязкость цельной крови [7]. При низких скоростях сдвига большое значение приобретают индивидуальные свойства эритроцитов, их агрегационная способность, так как они оказывают выраженное влияние на процессы свертывания крови и тромбогенез [8]. Механические свойства эритроцитов обусловлены их деформируемостью. Это свойство определяет

аномальное поведение крови в диапазоне скоростей сдвига от 50 до 150 – 200 с<sup>-1</sup>. Нормальные эритроциты, находящиеся в концентрированных суспензиях, при очень низких скоростях сдвига значительно деформируются, а при более высоких (200 и выше с<sup>-1</sup>) уподобляются в своем поведении твердым частицам. В цельной крови эта подобная закономерность наблюдается и при меньших скоростях сдвига (около 150 с<sup>-1</sup>) [9]. Вязкость крови уменьшается за счет дезагрегации эритроцитов от 110 – 120 до 10 сПз, а деформации эритроцитов – от 10 до 2 сПз.

Количественный состав и морфология клеток крови и ее химический состав у человека в норме характеризуются достаточно высокой стабильностью, которая связана с постоянством действия регуляторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза. Состояние системы крови отражает малейшие изменения, происходящие в организме при отклонениях от нормы в его тканях и органах. Поэтому изучение различных изменений в системе крови имеют важное диагностическое значение[10].

#### **1.4. Физико-химические основы механизмов агрегации**

Рассматривая влияние различных условий на процесс агрегации красных клеток крови, выделяют: факторы связанные непосредственно с самой кровью и внешние факторы (факторы окружающей среды).

Свойства крови, оказывающие влияние на агрегацию эритроцитов:

а) Состав плазмы. В целом установлено, повышение агрегационного эффекта происходит с увеличением высокомолекулярных белков в плазме. Структура белка также имеет большое значение. Гибкая цепная структура полимера предпочтительней глобулярной. Поэтому увеличение  $\alpha_2$ -макроглобулина, IgM или фибриногена увеличивают агрегацию. Подобные условия способствуют образованию глыбоподобных агрегатов более устойчивых к сдвиговым деформациям. Так же показано что липопротеидные соединения оказывают влияние на агрегацию эритроцитов *in vitro*. При введении рентгеноконтрастных веществ и инфузиях изменяется плазменный состав а следовательно и агрегация. Снижение pH среды или ионная сила

вызывают склеивание и выпадение в осадок из однородной взвеси эритроцитов [11].

б) Агрегационные свойства самих клеток. В случае если эритроциты достаточно эластичны для образования максимальной области контакта между клетками формируются физиологически нормальные агрегаты (монетные столбики). Незначительное снижение эластичности эритроцитов понижает агрегатообразование, не смотря на сохранение нормального состава плазмы. [12]. Понижение деформируемости эритроцитов возможно в следующих случаях: уменьшения площади поверхности клеточной мембраны по отношению к объему клетки, увеличения концентрации гемоглобина в клетке или увеличение вязкости гемоглобина (серповидно-клеточная анемия), уменьшения эластичности непосредственно клеточной мембраны, изменения формы клеток (сфероцитоз). Кроме того, изменение заряда клеточной поверхности и ее пространственного строения оказывают влияние на образование «монетных столбиков» [13].

в) Количество клеток. Совместная возможность взаимодействия клеток зависит от их концентрации. С увеличением концентрации эритроцитов Повышается возможность их соединения. Оптимальные условия наблюдаются при показателе гематокрита 0,35 [14]. Дальнейшее увеличение гематокрита может привести к снижению агрегации клеток.

Внешние факторы.

Исследования агрегации с помощью светового микроскопа проходит в статических условиях. При воздействии на клетки скоростями сдвига до до  $0,5 \text{ c}^{-1}$  наблюдается повышение агрегации. Это можно объяснить повышением вероятности клеточных столкновений в потоке. При воздействии скоростями сдвига выше данного уровня нарушается формирование агрегатов а при превышении сдвигового давления свыше  $0,2 \text{ Н/м}^2$ , физиологически нормальные агрегаты полностью распадаются (деагрегируют). Кроме того, необходимо учитывать такие факторы как температурная и плазменная вязкость [15].



Другим, известным механизмом агрегации эритроцитов является образование макромолекулярных «мостиков» между эритроцитами. Белковые макромолекулы крови также несут электрический заряд, как и эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Но действие белковых макромолекул на агрегационную способность эритроцитов невозможно нейтрализацией макромолекулами зарядов на клеточной мембране эритроцитов, так как доказано, что увеличение скорости агрегации эритроцитов может быть вызвано не только заряженными белками, но и многими высокомолекулярными соединениями не несущими положительного заряда [16].

На формирование агрегатов эритроцитов оказывают влияние водорастворимые незаряженные полимеры. Распространенные их представители это - декстран и поливинилпирролидон [17]. Механизм воздействия таких полимеров на эритроцитарные агрегаты объяснить нельзя опираясь на постулаты агрегационной модели основанной только на электрораспределении.

Отрицательно заряженные полимеры могут так же вызывать ассоциацию эритроцитов. Так, например, полиглутаминовая кислота с молекулярной массой 50-66 кД и гепарин, даже в терапевтических концентрациях, соединяют эритроциты [18]. В результате можно заключить, что заряд эритроцитов не является показательным фактором для агрегации эритроцитов.

На агрегацию эритроцитов влияют и другие макромолекулы. Например, способность ослаблять агрегацию имеет сывороточный альбумин. Взаимодействие альбумина с нормальной или гипоальбуминемической плазмой снижает показатель скорости оседания эритроцитов. [19].

Существующие экспериментальные данные придерживающиеся теории о том, что агрегация эритроцитов это адгезия, вызванная различными полимерами, показывают то, что воздействие полимеров в основном определяется их молекулярной массой и имеет высокую зависимость от их

концентрации. [20]. Причем такая зависимость имеет нелинейный характер [21], рис. 1.3.

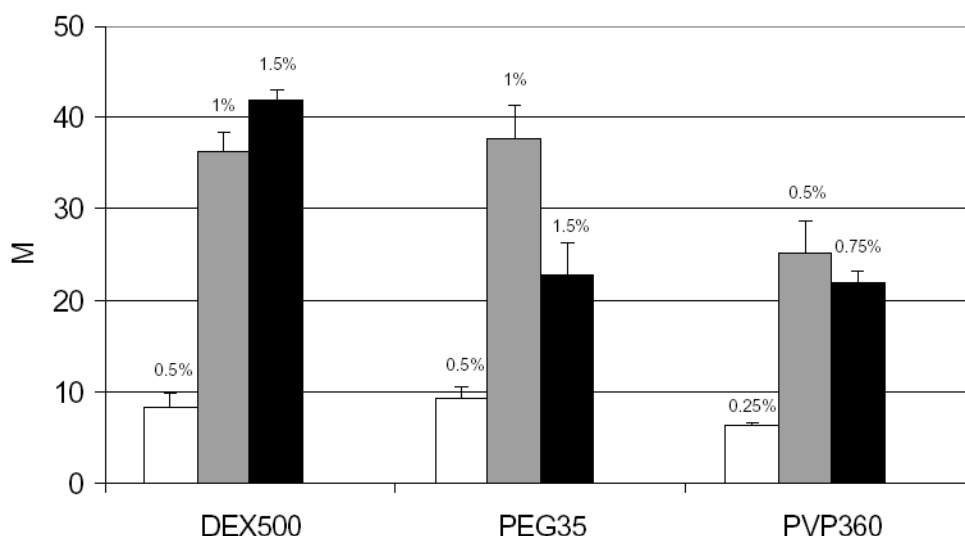


Рисунок 1.5 - Агрегация эритроцитов в растворах полимеров (декстран – DEX500, полиэтиленгликоль – PEG35, поливинилпирролидон – PVP360) разной концентрации. М – индекс агрегатируемости

Исследуя поведение макроскопических частиц, таких как эритроциты, в двухфазных системах отмечается, что эритроциты неравномерно распределяются между двумя жидкими фазами, также возможно их сосредоточение на границе сред, в так называемой интерфазе. В случае помещения эритроцитов в раствор, схожий по составу фазе двухфазной среды, которая способствовала вытеснению эритроцитов и так как второй фазы нет и вытеснятся эритроцитам некуда, то необходимость снижения свободной энергии системы приведет к тому, что эритроциты образуют собственную фазу. Внешне подобная фаза будет напоминать агрегацию или слипание эритроцитов друг с другом. [20].

Существует фазовая гипотеза ассоциации эритроцитов, которая утверждает что при условии превышения концентрации полимерных молекул в среде некоторого критического значения, связанного со свойствами полимеров, свойствами эритроцитов, свойствами низкомолекулярных компонентов раствора, наблюдается расслоение фаз. Одна из двух фаз представляет собой раствор высокомолекулярных полимеров объединенный эритроцитами. Вторая

фаза представляет собой агрегаты эритроцитов. Причем обе данные фазы являются по-разному структурированными водными системами.

Фазовая модель скопления эритроцитов в водных растворах полимеров, таких как плазма крови непротиворечиво объясняет многие факты, связанные с ассоциацией эритроцитов, а также с особенностями осаждения цельной крови. Фазовая модель предполагает существование определенного оптимального «фазового пространства» критических параметров, в котором может происходить при малых колебаниях критических условий, как быстрая агрегация, так и дезагрегация в зависимости от потребностей организма [19].

### **1.5. Методы оценки агрегации эритроцитов, применяемые в клинической практике и экспериментальной медицине и биологии**

Изучение кинетики агрегатообразования у человека в норме или патологии началось с использования микросъемки эритроцитов в однородном сдвиговом потоке в Wells-Brookfield вискозиметре типа «конус-пластина» с прозрачной рабочей частью, позволяющей осуществить прямое микроскопическое наблюдение кровотока. Увеличение в данном методе составляло от 60 до 400 раз[22].

В реологии вискозиметрические приборы используются в основном для определения вязкостных характеристик крови, но при определении модификации возможно визуальное наблюдение за процессом агрегации в динамике. Течением Куэтта называют ламинарное течение вязкой жидкости между двумя параллельными стенками. Если нижняя стенка закреплена, а верхняя движется с постоянной скоростью, реальная жидкость оказывает сопротивление этому «сдвигу». Поэтому для поддержания движения необходимо, чтобы на верхнюю пластину действовала постоянная сила, тем большая, чем выше скорость. Жидкость в зазоре движется так, что создает линейное распределение скорости, т.е. скорость жидкости пропорциональна расстоянию от нижней пластины. Наклон равный отношению скорость/высота зазора называют скоростью сдвига. Силу, отнесенную к площади пластинки,

называют напряжением сдвига. Отношение напряжения сдвига к скорости сдвига называют вязкостью.

Различают несколько вискозиметров:

1. Ротационные с концентрическим цилиндром или приборы, построенные по принципу конус-пластина. В ротационном вискозиметре исследуемую жидкость помещают в пространство между двумя соосными цилиндрами, конусами, сферами, одни из них остаются неподвижными, другие вращаются.

2. Капиллярные вискозиметры имеют рабочую область в виде жесткой цилиндрической трубки – капилляра, диаметр которой очень мал по сравнению с длиной, чтобы избежать влияния ее конца и приблизиться к идеальной геометрии бесконечно длинной трубки. Течение в них происходит за счет разницы давления на концах трубки, задаваемого внешними устройствами[23].

Изучение морфологии агрегатов при различных скоростях сдвига было проверено рядом авторов в специальной проточной камере толщиной 50 мкм. При этом Левтов В.А. указал, что агрегация эритроцитов в эксперименте зависит от условий кровотока, геометрии камеры, содержащей кровь, времени, прошедшем с начала процедуры, и от исходного состояния крови.

Изучение спонтанной и индуцированной агрегации с оценкой качественных и количественных показателей агрегации называют фотометрическими исследованиями. Оптический количественный анализ основывается на регистрации измерений, происходящих с лучом света при прохождении его через исследуемый раствор [24].

Фотометрические исследования агрегационных характеристик крови начались с работ Dornon A. и последователей, которые изучали изменение фотометрического сигнала отраженного от крови, во время и после перемешивания. Ими была установлена зависимость интенсивности сигнала от ориентации и агрегации эритроцитов.

Подробное изучение изменения интенсивности света, проходящего через тонкий слой крови в реоскопе, провели Schmid-Schoenbein и другие. Они

выявили изменение интенсивности света после остановки потока. Модификацию метода позже разработал Тухвалин Р.Т. с соавторами (1986). Недостатком обеих методик является очень тонкий слой крови, через который проходит луч света. Процесс агрегации происходит в слое толщиной не более 0,1 мм. Это означает, что исследуемая агрегация, в основном, двумерна, т.е. не является моделью нормальной трехмерной агрегации в крови *in vivo*.

С целью изучения трехмерной агрегации эритроцитов в достаточно толстых слоях крови были разработаны рефлектометрические методы и устройства, в которых сдвиговый поток моделировался Куэттовским течением. Эти два направления в нефелометрических методиках послужили прототипом для создания эритроагрегометров типа конус-пластина (Myrenne, Aachen) и Куэтта (Sefam, Wandoeurreles Nancy). Эти методы основаны на регистрации процесса спонтанной агрегации эритроцитов в течении первых 10-15 с., следовательно незавершенного процесса агрегации. Фирсов Н.Н. предложил исследовать процесс гидродинамической дезагрегации эритроцитов при увеличении скорости сдвига до полной дезагрегации.

Адсорбционные фотометрические методы основаны на интенсивности поглощения света (приборы типа ФЭК-М, ФЭК-Н-57). Величина абсорбции или оптической плотности есть произведение концентрации вещества на толщину слоя раствора. Фотометрические приборы подразделяют на обычные фильтровые фотометры и спектрофотометры. В последних участки спектра выделяют при помощи призм или дифракционных решеток; что позволяет установить любую длину волны в большом диапазоне (спектрофотометры типа СФ-4, «Солар»).

Нефелометрия представляет собой оптический анализ, основанный на измерении светового потока, рассеиваемого в направлении почти перпендикулярном направлению его падающего пучка. Светорассеяние справедливо когда размеры встречаемых на пути света частиц превышают длину волны электромагнитного излучения. Повышение рассеяния света и уменьшение светопропускания связано непосредственно, с помутнением

дисперсной среды. В определенных условиях возможна пропорциональная зависимость между мутностью дисперсной среды и содержанием частиц во взвеси. Таким образом, принцип нефелометрии основан на измерении количества света, рассеиваемого частицами в жидкой среде. Оптимальные условия его применения состоят в использовании растворов низкой концентрации. В практической практике нефелометрический метод используется редко:

он выполняется с помощью дорогостоящих приборов, например лазерных нефелометров.

Турбидометрия представляет собой разновидность нефелометрии, при использовании которой частичная непрозрачность анализируемой среды измеряется путем оценки снижения интенсивности падающего светового потока. Поглощение монохроматического светового потока происходит в случае, если длина волны электромагнитного излучения оказывается значительно меньше, чем размеры частиц. Турбидометрия – менее чувствительный метод, чем нефелометрия, т.к. для него используются среды с относительно большим содержанием частиц в единице объема. Турбидометрический анализ находит все большее применение в клинической медицине [22].

#### **1.5.1. Методы микроскопии**

1. «Гемоцитометр» основан на оценке агрегации посредством сравнения микрофотографий разбавленной суспензии эритроцитов в плазме и в растворе Рингера с альбумином.

2. Реогониометр Вайсенберга, оснащенный микроскопом, и Well-Brookfield вискозиметр с прозрачной рабочей частью позволяют исследовать кинетику агрегации и дезагрегацию эритроцитов. Это дорогостоящий исследовательский комплекс с большим набором сменных рабочих элементов, таких как конусы и пластины, коаксиальные цилиндры. Исследования можно проводить как для установившегося потока, так и для потока в колебательном режиме.

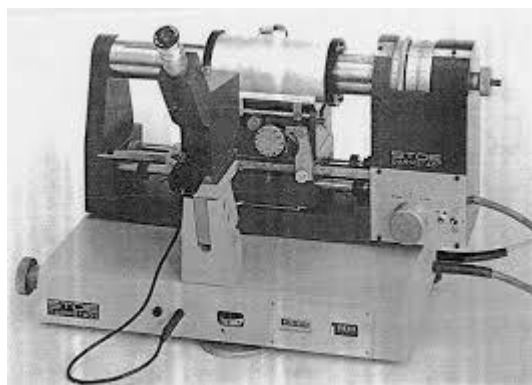


Рисунок 1.6 - Реогониометр Вайсенберга

3. Реоскоп Schmid-Schoenbein Н. и соавт. позволяет непосредственно наблюдать клетки крови во время течения при постоянной скорости сдвига и изучать кинетику агрегации при заданных условиях. Экспериментальные данные могут быть получены в виде микрофотографий или микросъемки и в дальнейшем подвергнуты цифровой обработке с помощью компьютера. Преимуществами этого метода являются возможность работать в широком диапазоне гематокрита, возможность пренебречь седиментацией частиц и рассматривать только процесс образования монетных столбиков. При работе с реоскопом можно легко контролировать скорость сдвига, состав суспензии и использовать только малые объемы образца. Одним из недостатков метода является возможность исследовать только двумерные агрегаты и сложность представляет выражение агрегации эритроцитов количественно в легко сопоставимых единицах [24].

4. Метод биомикроскопии дает представление о состоянии эритроцитов в микрососудах различных органов и топографических зон. Недостаток – незначительное число исследуемых структур, влияние неблагоприятных условий оперативного вмешательства. Микроскопия сосудов бульбарной конъюнктивы глаза позволяет оценить состояние кровотока при жизни, но этот метод труден для интерпретации и не позволяет количественно точно оценить агрегацию эритроцитов в движущемся потоке.

5. Прямое микроскопическое наблюдение в тонком мазке крови. Метод характеризует агрегацию эритроцитов только качественно и на его результаты

вливают скорость растекания крови, неравномерность концентрации эритроцитов по длине мазка и другие факторы[24].

6. Оценка агрегации эритроцитов при микроскопии разбавленной крови. Осадок промытых физиологическим раствором эритроцитов ( $Ht=74\%$ ) добавляли к плазме в соотношении 1:1. Эту взвесь в смесителе разводят той же плазмой до  $Ht=0,3-0,6\%$ , затем нерезко встряхивают в течении 3 минут и помещают в камеру Горяева. Учитывают число не агрегированных эритроцитов и оценивают форму агрегатов. Число не агрегированных эритроцитов к общему числу эритроцитов – искомая величина. В норме число неагрегированных эритроцитов составляет 43-60%.

7. Оценка агрегации эритроцитов при микроскопии неразбавленной крови. Для визуальной оценки и микросъемки текущей крови была создана прочная разборная камера с каналом прямоугольного сечения. Конструкция предусматривает изменение толщины щели. Объектив микроскопа располагается на расстоянии 38 мм.от начала участка постоянного сечения щели. Входной штуцер кюветы с помощью толстостенной полиэтиленовой трубки соединялся со шприцом – инфузатором. Кровь используется однократно.

8. Метод оптической микроскопии с последующей видеорегистрацией и компьютерным анализом изображения.

Подготовка эритроцитов перед исследованием включала: отделение от плазмы центрифугированием в течении 20 минут при 3000 об/мин., затем эритроциты трижды отмываются в физиологическом растворе. При исследовании различных веществ на агрегацию эритроцитов их инкубируют 15 минут при  $37^{\circ}\text{C}$ , затем ресуспендируют в аутологичной плазме при комнатной температуре для исследования агрегатообразования. Установка для агрегометрии эритроцитов включает: световой микроскоп с длинофокусным объективом 10x и фотоокуляр 10x; видеокамеру и компьютер. При регистрации оценивают число агрегированных и неагрегированных эритроцитов. Рассчитывают отношение числа агрегатов к количеству



неагрегированных клеток и это отношение принимают как показатель агрегации эритроцитов (ПА). Регистрацию процесса агрегатообразования проводят пять раз через 15 секундные интервалы. Затем строят график процесса агрегатообразования и по уравнению регрессии оценивают скорость агрегатообразования в каждой исследуемой пробе как тангенс угла наклона линии тренда и кривой агрегатообразования. Метод позволяет оценивать величину агрегации эритроцитов, скорость и размер агрегатов [25].

### **1.5.2. Определение агрегации эритроцитов по скорости седиментации эритроцитарной суспензии**

Утверждают, что скорость седиментации эритроцитов является косвенным показателем скорости агрегации эритроцитов.

В клинике применяется стандартная методика Вестергрина (рисунок 1.7).

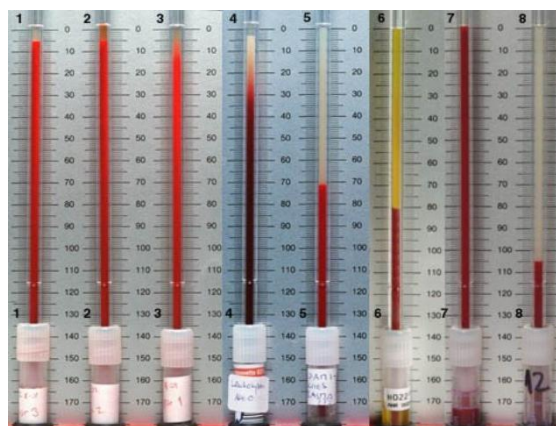


Рисунок 1.7 - СОЭ по Вестергину

Для оценки результатов измерений требуется учет гематокрита, вязкости, плотности, температуры среды и другие факторы [47, 57]. Кроме того, процесс оседания агрегатов происходит при неконтролируемых сдвиговых условиях (разрушение и образование агрегатов при малых напряжениях сдвига, деформация и вращение частиц, обратный поток плазмы в седиментационной трубке). Этот процесс зависит от концентрации эритроцитов, высоты столбика жидкости в капилляре и его внутреннего диаметра. Однако рядом авторов не найдена связь между агрегацией и СОЭ [26].

### **1.5.3. Оптические способы измерения агрегации**

#### **1. Фотометрический метод.**

Dognon A. и соавторы, изучавшие изменение фотометрического сигнала, отраженного от крови после перемешивания, показали, что интенсивность рассеянного света возрастает, а интенсивность проходящего света падает. Этими авторами была установлена зависимость интенсивности сигнала не только от ориентации, деформации и агрегации эритроцитов, но и от степени оксигенации гемоглобина. Поэтому наиболее информативным оказывается измерение отраженного света. Учитывается и то, что при изменении образцов цельной крови (в отличие от эритроцитарных суспензий) наиболее существенными оказываются эффекты, связанные именно с агрегацией эритроцитов.

2. Schmid-Schoenbein H. и соавторы измеряли интенсивность проходящего света для вискозиметра типа конус-пластина. Внезапная остановка потока сопровождалась уменьшением интенсивности прошедшего света (вызванной дезориентацией клеток крови) с последующим возрастанием интенсивности, отражающим, по мнению авторов, процесс агрегации. Запись процесса продолжалась в течении 10 секунд. Вероятно, получаемые таким образом результаты не отражают полностью процесс агрегации, а лишь описывают некоторый усредненный показатель. В частности, не наблюдается явной корреляции между указанными данными и результатами, полученными прямым наблюдением процесса агрегации [27].

3. Турбидиметрический метод. Примером агрегометров, при помощи которых можно судить об изменении структурно-функциональных свойств тромбоцитов, являются «СОЛАР», «Биола» (Россия). Также существует турбидометр эритроцитов – MF 4020 (Белорусия).

Анализаторы агрегации Биола выполняют следующие задачи:

- исследование агрегации тромбоцитов и эритроцитов;
- определение концентрации клеток в пробе;
- оценка формы клеток.

Агрегация тромбоцитов фиксируется турбидометрическим методом, а также существует возможность использования метода, в основе которого лежит оценка среднего размера агрегата в реальном времени. Турбидометрический метод был предложен Борном и О-Брайеном. Данный метод на сегодняшний день является наиболее популярным при исследовании ассоциации тромбоцитов. В основе турбидометрического метода лежит регистрация изменения светопропускания плазмы, обогащенной тромбоцитами. Поэтому возможна оценка, как агрегации, так и изменения формы тромбоцитов. Но с другой стороны деформация формы может скрыть начало агрегации. Также образование малых агрегатов, имеющих в составе менее 100 тромбоцитов, оказывает малое влияние на светопропускание пробы. В 1989 году З.А.Габбасовым и соавт. был предложен новый метод исследования агрегации тромбоцитов. Метод основан на анализе флуктуаций светопропускания (ФСП-метод), вызванный случайным изменением числа частиц в оптическом канале. Относительная дисперсия таких флуктуаций пропорциональна среднему размеру агрегатов и используется для исследования кинетики агрегации[28]. Метод имеет высокую чувствительность, что позволяет с помощью него проводить оценку спонтанной агрегации, с использованием малых концентраций активаторов а также оценку агрегации макромолекул и субклеточных частиц. Развитие данного метода дало возможность регистрировать концентрацию частиц в перемешиваемой суспензии. В комплекте с анализаторами агрегации поставляется программное обеспечение. Программа выполняется на IBM-совместном компьютере в среде Windows. Она отображает кривые агрегации в ходе эксперимента, сохраняет их вместе с временными метками и сопроводительной информацией на диске, и позволяет в дальнейшем их просматривать и обрабатывать. Лазерный анализатор агрегации тромбоцитов/счетчик 230LA отличается от обычного турбидиметрического агрегометра наличием фильтра высоких частот и двухполупериодным выпрямителем. Как обычно, светопропускание выражается в процентах, причем, начальное светопропускание обогащенное

тромбоцитами плазмы (ОТП) принимается за 0%, а бедной тромбоцитами плазмы (БТП) – за 100%. В литературе часто встречаются англоязычные эквиваленты сокращений ОТП и БТП – PRP и PPP соответственно. Прибор имеет два независимых канала. Светопропускание и размер агрегатов измеряются в обоих каналах одновременно. Температура и скорость перемешивания поддерживается встроенным микропроцессором независимо в каждом канале. Концентрация клеток может быть измерена только в одном канале [28].

Использование для оценки агрегации эритроцитов лазерного анализатора марки 230 LA производства НПФ «Биола» (Россия) предложена Спасовым А.А. и соавт. (2000). Исследования проводили на эритроцитах человека. Для приготовления клеточной суспензии эритроцитов 1мл цельной крови смешивают с 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1 и затем трижды отмывают в 10 мл буфера Кребса (pH 7,4). После тоекратного промывания и удаления супернантанта 0,05мл отмывтых эритроцитов осторожно ресуспендируют в 10 мл раствора Кребса. Исходные рабочие взвеси эритроцитов имеют величину оптической плотности, равную 1,0 D. В качестве стандартного агрегирующего агента пользуют альциановый голубой (2 мг/мл). Прибор предварительно калибруют по двум точкам . При этом светопропускание образца эритроцитарной суспензии принимают за 0%, светопропускание индуктора в физиологическом растворе за 100%, а средний размер одиночного эритроцита за единицу. Для оценки агрегации в кювету прибора последовательно вносят 250 мкл суспензии отмывтых эритроцитов, стандартизированных по оптической плотности, и магнитную мешалку. Скорость вращения мешалки 800 об/мин. Кювету вставляют в термостатирующую (37<sup>0</sup>C) ячейку прибора. На 10 секунде в кювету добавляют 50 мкл 2% раствора альцианового голубого («Sigma», США). Агрегация эритроцитов сопровождается снижением оптической плотности суспензии, что регистрируется фотометрическим способом. Кроме того, прибор определяет величину агрегатов.

Методика Спасова А.А. и соавт. (2000) позже была модифицирована рядом авторов. Исследования проводят в течении 1-2 часов момента забора крови. В качестве индуктора агрегации используют алциановый голубой (“FerakBerlin”, Германия). Калибровку прибора проводят по двум точкам – для суспензии эритроцитов и для 0,9% раствора NaCl (их светопропускание принимается соответственно за 0% и 100%, а средний размер одиночного эритроцита – за 1 условную единицу). Забор венозной крови производят утром натощак, при пункции локтевой вены самотеком в тefлоновые пробирки с 3,8% раствором цитрата натрия (в соотношении 9:1) в объеме 2 мл. К 1 мл.цитратной крови добавляют 9 мл 0,9% NaCl и центрифугируют 20 минут (150 об/мин), надосадочную жидкость удаляют. К 1мл суспензии эритроцитов добавляют 9 мл 0,9% NaCl и вновь центрифугируют. Такую процедуру повторяют еще раз, после чего 0,05 мл.трехкратно отмытых эритроцитов ресуспенсируют в 10 мл 0,9% NaCl для получения рабочей суспензии эритроцитов. По 1 мл этой суспензии вносят в пробирки, содержащие 0,1 мл 0,9% NaCl. Затем в кюветы вносят по 0,3 мл. суспензии преинкубированных эритроцитов и магнитную мешалку (скорость вращения – 1000 об/мин), а через 5 с. – по 0,03 мл 2% раствора алцианового голубого и в течении 7 минут в термостатической ячейке прибора (37<sup>0</sup>С) оценивают агрегацию эритроцитов. Оценку агрегации проводят по следующим показателям (рисунок 1.8):

- 1) максимальное светопропускание (МС), в %;
- 2) время достижения МС;
- 3) максимальный наклон кривой МС, в % в 1 мин;
- 4) время достижения максимального наклона на кривой МС в с;
- 5) максимальный средний радиус агрегатов (СРЭА), в усл. ед.;
- 6) время достижения максимального СРЭА, в сек.;
- 7) максимальный наклон кривой СРЭА, в усл. ед. в 1 мин.;
- 8) время достижения максимального наклона кривой СРЭА, в сек.

Показатели 1 и 5 отражали степень агрегации, а показатели 2,3,4,6,7 и 8 – скорость агрегации.

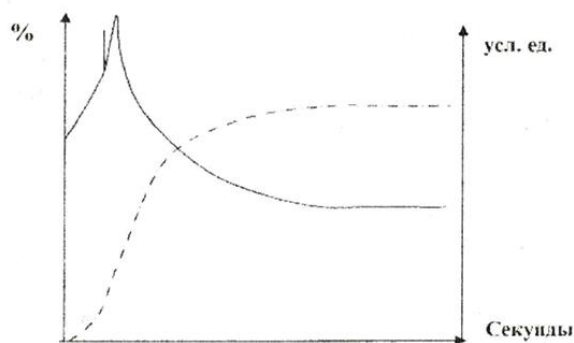


Рисунок 1.8 – Кривая агрегации, полученная с помощью агрегометра «Биола».

Сплошная линия отражает светопропускание, штриховая – средний радиус агрегатов [29].

4. Исследование агрегации эритроцитов методом лазерной дифрактометрии. Принцип действия лазерного дифрактометра основан на явлении дифракции лазерного излучения на измеряемом объекте, дающем представление о геометрических и механических свойствах эритроцитов. Преимущества метода: бесконтактность, малое время, высокая локальность измерения, инвариантность к смещениям и отсутствие необходимости фиксации образца. Недостатком метода считают тот факт, что при превышении оптической толщины слоя образца (монослой эритроцитов) образуется переизлучение, также возможна дезагрегация образца при неосторожном встряхивании меланжера [30].

5. Метод селектометрии. Сущность метода состоит в оценке интенсивности светорассеяния кровью после прекращения размешивания[31].

6. Автоматические системы. Появление автоматических фотометров, исключаящих из практики оператора стадию расчетов, дало возможность проводить измерения не только в режиме конечной точки (когда реакция уже завершилась), но и фиксированного времени (измерение результата через определенной интервал времени после начала реакции), и в режиме кинетики (ряд изменений с определенным интервалом времени и расчетом по величине показателя за этот интервал времени). Результаты легко представляются количественно. Наиболее распространенные автоматические фотометры

относят КФК-2, КФК-3 являются одноканальными, позволяющие проводить простейшие (метод конечной точки) исследования. Одноканальный спектрофотометр фирмы «Солар» PV-1251-С комплектуется компьютером и проточной кюветой.



Рисунок 1.9 - Спектрофотометр PV 1251C

Автоматические системы, основанные на анализе кривых изменения интенсивности отраженного света после остановки потока при различных исходных скоростях сдвига. Анализ таких кривых позволяет получить такие параметры как время агрегации, индексы ориентации и структурированности, а также прочность агрегатов, т.е. скорость сдвига, при которой наступает дезагрегация.

Применяются приборы оригинальной конструкции. Так, Фирсов Н.Н., Вышлова М.А. (2004) предложили прибор, названный как соосно-цилиндрический агрегометр с регистрацией обратного светорассеяния от слоя крови толщиной 1 мм. Он позволяет определять скорость образования «монетных столбиков» при их спонтанном формировании или индукции агрегации высокомолекулярным декстраном D-500. Козинец Г.И. и соавт. (1997) предложили пьезодинамический агрегометр. Левин Г.Я. и соавт. (1982) сконструировали высокочувствительный агрегометр, основанный на фотометрическом методе.

#### **1.5.4. Другие методы оценки агрегационных свойств эритроцитов**

1. Сравнение относительной вязкости цельной крови с эритроцитарной суспензией в среде Рингера с альбумином при стандартном гематокрите. Полученную разность относят на счет агрегационного взаимодействия [31].

2. Метод аглометрии основан на продавливании определенного объема исследуемой крови через фильтр, с определенным диаметром пор, с постоянной скоростью в течении определенного отрезка времени.

Метод измерения фильтруемой крови через мелкопористый фильтр предложенный Swank R.L. и соавт. (1964) и Thurston G.B. (1989) представляет устройство в виде блока с подогреваемым резервуаром, по которому движется поршень, прогоняющий кровь через фильтр с отверстиями 20 мкм. Скорость движения поршня обеспечивает подачу 0,2 мл. крови в секунду. С помощью трансдюссера и усилителя записывают фильтрационное давление, которое требуется для фильтрации 2 мл крови в течении 10 секунд. Этим методом можно измерить степень агрегации крови при добавлении в нее различных веществ. Исследования показали, что нормальная кровь фильтруется при давлении 25 – 50 мм.рт. ст., при добавлении 2,5 мг адреналина или норадреналина оно увеличивается до 400-450 мм. рт. ст. Величина фильтрационного давления регистрируется самописцем на бумаге. Методика была модифицирована Nuriel E.H. и соавт. путем обеспечения более точного контроля за скоростью движения крови и ее температурой.

Другой функциональный метод основан на принципе постоянного давления, под которым фильтруется кровь через мелкопористый фильтр. В этом случае фильтрация графически характеризуется прямой линией, если кровь не содержит агрегатов. При наличии агрегатов на графике возникает кривая линия, свидетельствующая об уменьшении количества крови, протекающей в единицу времени [32].

3. Анализ агрегатного состояния эритроцитов в микроциркулярном русле различных органов на гистологических препаратах. Любая часть организма может быть исследована гистологически. Оценка агрегатного состояния эритроцитов включает: определение площади, размеров и количества эритроцитов и эритроцитарных агрегатов, расстояние между ними. Недостаток метода – трудность и необходимость различать застойное проникновение и функциональную гиперемия в органе.



4. Метод оценки состояния мембран эритроцитов, основанный на определении агрегации эритроцитов, стимулируемой одновременным снижением pH и ионной силы инкубационной среды (концентрация ионов).

5. Перекрестный метод анализа СОЭ и коэффициента агрегации. Величина СОЭ измеряется при нескольких различных показателях гематокрита в 4 вариантах: 1) эритроциты больного в плазме больного, 2) эритроциты больного в плазме донора с аналогичной АВО-группой и Rh-фактором, 3) эритроциты донора в плазме донора, 4) эритроциты донора в плазме больного. Данный метод дает дифференциальную информацию об источнике измерения СОЭ (плазменный или мембранный) [33].

6. Метод дзета-седиментации. Введен новый показатель ZSRrel, корректирующий различия в гематокрите суспензий.

7. Определение агрегации эритроцитов на основании измерения диэлектрических свойств крови. Это быстрый (0,2 секунды) и точный метод определения размеров агрегатов в крови и суспензии эритроцитов.

8. Использование ультразвука в системе Couette. Метод основан на эффекте рассеивания звука в крови, позволяет оценивать размеры эритроцитарных агрегатов. Определены новые индексы ультразвука потенциально прилагаемые для исследования, предложена интерферометрическая методика (Echo-Cell).

9. Метод микроэлектрофореза для исследования полимер-клетка взаимодействия около поверхности эритроцита [34].

## **1.6. Агрегация эритроцитов при различных патологических состояниях**

### **Агрегационные свойства эритроцитов при сосудистой патологии**

Изменения сосудистого тонуса организма приводят к сдвигам артериального давления. В подобных условиях нестабильность реологических свойств крови может компенсировать или же усугубить транспортные свойства системы кровообращения человека. Повышенная агрегация эритроцитов может говорить о повышенной вязкости крови, даже при низких скоростях сдвига

кровотока. При оценке агрегации эритроцитов у группы больных с гипертонией показатель на 90% больше чем у здоровых людей. Повышенная агрегационная способность эритроцитов является одним из основных факторов оказывающих действие на величину артериального давления. Так как с повышением агрегации повышается вязкость цельной крови при низких величинах напряжения сдвига, которая в свою очередь положительно коррелирует с диастолическим артериальным давлением [37].

В ходе клинической практики замечено, что сильное увеличение агрегации эритроцитов наблюдается у больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей. У больных с II и III-IV стадиями заболевания наблюдаются наиболее высокие показатели агрегации: выраженное возрастание максимума светопропускания (на 25 и 53% соответственно) и размеров агрегатов (на 25 и 62% соответственно). Исследования выполнялись на лазерном агрегометре LA 230 с индуктором агрегации алциановым голубым.

В ряде исследований показано, что при наличии у пациента геморрагического васкулита наблюдается нарушение системы гемостаза, а также нарушение агрегационной способности эритроцитов. При изучении обратимой агрегации эритроцитов и оценке показателей, характеризующие минимальную  $U_0$  и максимальную  $U_d$  механическую прочность агрегатов эритроцитов,  $B$ ; полупериод спонтанной агрегации эритроцитов  $t$ , с; индекс агрегации эритроцитов  $J_a = U_d/t$ , отражающий соотношение агрегационных и дезагрегационных процессов, приводятся следующие данные, отраженные в таблице 1.2 [37].

Таблица 1.4 - Реологические показатели крови у здоровых и больных геморрагическим васкулитом

Показатель	Контрольная группа	Больные ГВ
$U_0, B$	$12,29 \pm 0,71$	$24,91 \pm 1,69$
$U_d, B$	$57,82 \pm 1,10$	$110,09 \pm 4,89$
$t, c$	$32,47 \pm 2,55$	$9,36 \pm 0,80$

Ja, отн. ед.	$1,92 \pm 0,15$	$12,81 \pm 1,56$
--------------	-----------------	------------------

где:

$U_0$  - минимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

$U_d$  - максимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

$t$  - полупериод спонтанной агрегации эритроцитов;  $\alpha$  - индекс агрегации эритроцитов.

В результате можно сделать вывод, что при геморрагическом васкулите отмечаются высокие показатели минимальной и максимальной механической прочности агрегатов эритроцитов, индекса агрегации эритроцитов, уменьшение полупериода спонтанной агрегации эритроцитов по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей. [37].

### **Агрегационные свойства эритроцитов при инфаркте миокарда**

Нарушения реологических свойств крови и микроциркуляции также имеют большое значение в патогенезе острых форм ишемической болезни сердца.

Многие авторы отмечают увеличение агрегатообразования эритроцитов при развитии острого инфаркта миокарда по сравнению со здоровыми людьми. Так, если у здоровых он равен 1,18, то у больных ИМ с зубцом Q - 1,34, а у больных ИМ без зубца Q - 1,52. Процент неагрегированных эритроцитов наиболее низок при ИМ с зубцом Q (63,35%) и существенно отличается от показателя у больных без зубца Q (71,81%), а у здоровых лиц составляет 82,06%. Средний размер эритроцитарного агрегата увеличивается с глубиной поражения миокарда и составляет у здоровых лиц 4,36, у больных ИМ без зубца Q - 4,87, а с зубцом Q - 5,35. Данные показателей агрегации эритроцитов при остром ИМ приведены в таблице 1.5.

Таблица 1.5 - Показатели агрегации эритроцитов при остром ИМ.

Показатель	Здоровые	ИМ без зубца Q	ИМ с зубцом Q
ПА	1,18	1,52	1,34
ПНЭ	82,06	71,81	63,35
% CPA	4,36	4,87	5,35

где:

ПА - показатель агрегации:

$$ПА = (CРАЧКА + КСЭ) / (КА + КСЭ),$$

где СРА - средний размер агрегата, КА - количество агрегатов, КСЭ - количество свободных эритроцитов;

$$CРА = CЭА / КА,$$

где СЭА - сумма всех эритроцитов в агрегате;

ПНЭ - процент неагрегированных эритроцитов:

$$ПНЭ = (КСЭ \cdot 100) / (CРАЧКА + КСЭ)$$

Данные приведены при исследовании агрегации эритроцитов прямым оптическим методом.

Таким образом, у больных с острым ИМ показатели хуже, чем у здоровых лиц. Выраженность этих изменений зависит от глубины поражения миокарда и проявляется более значимо при ИМ с зубцом Q [38].

### **Агрегационные свойства эритроцитов при воспалительных заболеваниях**

#### **Агрегация эритроцитов при сифилисе**

Как известно, инфекционный процесс при сифилисе охватывает все структуры организма. Генерализованность, вазотропность возбудителя, а также интоксикация, обусловленная эндотоксином бледной трепонемы и продуктами распада сифилом, проявляются разнообразием клинической картины при сифилисе.

В литературе имеются лишь единичные данные об участии системы циркулирующих эритроцитов в патологическом процессе при сифилисе. Так, к примеру, приводятся данные показателей ОАЭ (минимальная ( $U_0$ , В) и максимальная ( $U_d$ , В) прочность агрегатов эритроцитов, скорость спонтанной агрегации ( $t$ , с), индекс агрегации ( $J_a = U_d/t$ )) при первичном и вторичном сифилисе.

У пациентов с диагнозом первичный серопозитивный сифилис увеличивается  $U_d$  в 1,2 раза и  $J_a$  в 2 раза, а скорость спонтанной агрегации

красных клеток (t) снижается в 1,6 раза по сравнению с соответствующими показателями у здоровых лиц.

У больных вторичным сифилисом выявляются еще более выраженные изменения показателей ОАЭ. Так, значения  $U_o$ ,  $U_d$ ,  $J_a$  увеличены по сравнению с нормой соответственно в 1,6; 1,3 и 2,5 раза, а  $t$ , напротив, уменьшилась в 1,8 раза по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц [39]. Данные показателей ОАЭ у больных первичным и вторичным сифилисом представлены в таблице 1.6.

Таблица 1.6 - Показатели ОАЭ у больных первичным и вторичным сифилисом

Показатель	Здоровые лица	Сифилис первичный	Сифилис вторичный
$U_o$ , В	$13,18 \pm 0,10$	$13,93 \pm 1,72$	$20,49 \pm 1,31$
$U_d$ , В	$74,32 \pm 1,93$	$86,41 \pm 5,02$	$94,47 \pm 1,94$
$J_a$	$2,94 \pm 0,32$	$5,94 \pm 0,98$	$7,47 \pm 0,582$
$t$ , с	$28,18 \pm 2,51$	$17,91 \pm 2,13$	$16,04 \pm 1,04$

где:

$U_o$  - минимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

$U_d$  - максимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

$t$  - полупериод спонтанной агрегации эритроцитов; - индекс агрегации эритроцитов.

#### Агрегация эритроцитов при гепатите В и С

Одним из ведущих факторов патогенеза вирусных гепатитов являются нарушения в системе микроциркуляции, оказывающие существенное влияние на кровообращение в целом, на тканевой гомеостаз, что отражается на функциях важнейших систем организма.

При вирусных гепатитах В и С отмечается увеличение  $U_o$ ,  $U_d$  в 1,5 раза, увеличение  $J_a$  более чем в 3 раза, а также снижение  $t$  в 2,9 раза по сравнению с таковыми показателями у здоровых [40]. В таблице 1.7 представлены данные показателей агрегации эритроцитов периферической крови у больных ОБГ в различные периоды заболевания.

Таблица 1.7 - Показатели агрегации эритроцитов периферической крови у больных ОВГ в различные периоды заболевания

Показатель	Здоровые	I период	II период	III период	IV период
Uo, B	12,8±1,0	15,5±0,8	20,0±2,4	14,4±1,3	16,3±1,5
Ud, B	73,5±2,0	95,9±3,2	87,4±3,3	80,7±3,2	85,0±5,0
Ja	2,84±0,32	6,60±0,48	4,40±0,37	3,47±0,34	2,80±0,30
t, c	28,8±2,5	16,9±1,3	22,9±1,7	26,5±2,1	32,6±2,0

где: Периоды: I - разгар, II - угасание клинических симптомов, III - ранняя реконвалесценция, IV - поздняя реконвалесценция.

Uo - минимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

Ud - максимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

t - полупериод спонтанной агрегации эритроцитов; - индекс агрегации эритроцитов.

Указанные изменения функционального состояния красных кровяных клеток закономерно приводит к развитию расстройств микроциркуляции, возникновению гипоксии ткани, осложняющих течение основного патологического процесса, усугубляя цитопатическое действие гепатотропных вирусов.

Агрегация эритроцитов при острой пневмонии

Нарушения реологических свойств крови в микрососудах явно наблюдается при острой пневмонии.

При данном воспалительном процессе отмечается изменение показателей агрегации эритроцитов по сравнению со здоровыми лицами: увеличение максимальной механической прочности агрегатов эритроцитов (Ud, B), индекса агрегации эритроцитов (Ja) и уменьшение значений минимальной механической прочности агрегатов эритроцитов (Uo, B), полупериода спонтанной агрегации эритроцитов (t, c) [42]. Данные показателей агрегации эритроцитов представлены в таблице 1.8.

Таблица 1.8 - Показатели ОАЭ у больных острой пневмонией

Показатель	Uo, В	Ud, В	Ja	t, с
Здоровые лица	11,98±1,53	55,20±2,49	1,51±0,15	42,88±4,16
Больные с острой пневмонией	9,73±0,70	61,17±2,99	3,49±0,64	23,47±3,05

где:

Uo - минимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

Ud - максимальная механическая прочность агрегатов эритроцитов;

t - полупериод спонтанной агрегации эритроцитов; - индекс агрегации эритроцитов.

Можно сделать вывод, что при различных воспалительных заболеваниях наблюдается увеличения показателя агрегации эритроцитов. Однако данный показатель агрегации при воспалительных процессах еще не достаточно изучен [41].

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА  
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И  
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

Группа	ФИО
1ДМ41	Литвинова Светлана Андреевна

Институт	Неразрушающего контроля	Кафедра	Промышленной и медицинской электроники
Уровень образования	Магистр	Направление/специальность	Биотехнические системы и технологии

**Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:**

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	Работа с информацией, представленной в российских и зарубежных научных аналитических материалах, нормативно – правовых документах
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	

**Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:**

1. Организация и планирование работ	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Определение этапов исследования</li> <li>– Определение трудоемкости работ</li> <li>– Составление линейного графика работ</li> </ul>
2. Планирование и формирование бюджета научных исследований	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Расчет общей себестоимости разработки</li> <li>– Расчет прибыли от реализации проекта</li> </ul>
3. Оценка экономической эффективности проекта	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Определение срока окупаемости инвестиций (PP – paybackperiod)</li> <li>– Оценка научно-технического уровня НИР</li> </ul>

**Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):**

1. Линейный график работ 2. График проведение и бюджет НИ 3. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НИР 4. Оценки научно-технического уровня НИР
---

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

**Задание выдал консультант:**

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Конотопский Владимир Юрьевич	к.э.н., доцент		

**Задание принял к исполнению студент:**

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1ДМ41	Литвинова Светлана Андреевна		



## **ГЛАВА 5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение**

### **Введение**

Целью данного дипломного проекта является разработка устройства для оценки агрегационной способности крови применяя метод фотометрирования капельных проб.

Перспективность любого научного исследования определяется коммерческой ценностью данной разработки. Коммерческая привлекательность является важным критерием при поиске источников финансирования для проведения научного исследования.

Коммерческая привлекательность научного исследования определяется не только превышением технических параметров над предыдущими разработками, но и тем, насколько быстро разработчик сумеет определить цену разработке, спрос на рынке, каков бюджет научного проекта, какой срок потребуется для выхода на рынок и т.д.

В данном разделе необходимо определить продолжительность выполнения работ, расчет трудовых затрат на выполнение проекта. Для уменьшения затрат следует организовать эффективное производство. Что невозможно без экономических обоснований всех инженерных решений.

### **5.1. Организация и планирование работ**

При организации процесса реализации проекта необходимо рационально планировать занятость каждого из его участников и сроки проведения отдельных работ.

В данном разделе необходимо составить полный перечень проводимых работ, провести распределение исполнителей по видам работ и определить их рациональную продолжительность.

Планирование работы является начальным этапом при проведении технико-экономического обоснования НИОКР. На этапе планирования составляется полный перечень проводимых работ, определяются исполнители каждого этапа, устанавливается продолжительность работ в рабочих днях,

строится линейный график выполнения работ. Это способствует рациональному распределению времени и труда, облегчает расчет трудоемкости выполнения работ при проектировании данного прибора.

Таблица 5.1 - Перечень работ и продолжительность их выполнения

Этапы работы	Исполнители	Загрузка исполнителей
Постановка целей и задач, получение исходных данных	НР, И	НР – 100% И – 30%
Составление и утверждение ТЗ	НР	НР – 100%
Подбор и изучение материалов по тематике	И	И – 100%
Разработка календарного плана	НР, И	НР – 100% И – 30%
Обсуждение литературы	НР, И	НР – 40% И – 100%
Выбор структурной схемы устройства	НР, И	НР – 100% И – 80%
Выбор принципиальной схемы устройства	НР, И	НР – 100% И – 80%
Расчет принципиальной схемы устройства	И	И – 100%
Проведение экспериментов	НР, И	НР – 30% И – 100%
Оформление расчетно-пояснительной записки	И	И – 100%
Оформление графического материала	И	И – 100%
Подведение итогов	НР, И	НР – 60% И – 100%

#### 5.1.1. Продолжительность этапов работ

Расчет трудоемкости работ составляет важную часть экономических расчетов, так как трудовые затраты зачастую определяют стоимость всей НИР и определяют сроки выполнения разработки.

Трудоемкость выполнения НИОКР оценивается экспертным путем в человеко-днях и носит вероятностный характер, т.к. зависит от множества

трудно учитываемых факторов. Для определения вероятных (ожидаемых) значений продолжительности работ  $t_{ож}$  применяется формула[45]:

$$t_{ож} = \frac{3 \cdot t_{min} + 2 \cdot t_{max}}{5}, \quad (5.1)$$

где  $t_{min}$  – минимальная продолжительность работы, дн.;

$t_{max}$  – максимальная продолжительность работы, дн.;

Для выполнения перечисленных в таблице 5.1. работ требуются специалисты:

- инженер – в его роли действует исполнитель НИР (ВКР);
- научный руководитель.

Для построения линейного графика необходимо рассчитать длительность этапов в рабочих днях, а затем перевести ее в календарные дни. Расчет продолжительности выполнения каждого этапа в рабочих днях ( $T_{РД}$ ) ведется по формуле[45]:

$$T_{РД} = \frac{t_{ож}}{K_{ВН}} \cdot K_{Д} \quad (5.2)$$

где  $t_{ож}$  – продолжительность работы, дн.;

$K_{ВН}$  – коэффициент выполнения работ, учитывающий влияние внешних факторов на соблюдение предварительно определенных длительностей, в частности, возможно  $K_{ВН} = 1$ ;

$K_{Д}$  – коэффициент, учитывающий дополнительное время на компенсацию непредвиденных задержек и согласование работ ( $K_{Д} = 1-1,2$ ; в этих границах конкретное значение принимает сам исполнитель).

Расчет продолжительности этапа в календарных днях ведется по формуле:

$$T_{КД} = T_{РД} \cdot T_{К}, \quad (5.3)$$

где  $T_{КД}$  – продолжительность выполнения этапа в календарных днях;

$T_K$  – коэффициент календарности, позволяющий перейти от длительности работ в рабочих днях к их аналогам в календарных днях, и рассчитываемый по формуле[45]:

$$T_K = \frac{T_{КАЛ}}{T_{КАЛ} - T_{ВД} - T_{ПД}} \quad (5.4)$$

где  $T_{КАЛ}$  – календарные дни ( $T_{КАЛ} = 365$ );

$T_{ВД}$  – выходные дни ( $T_{ВД} = 52$ );

$T_{ПД}$  – праздничные дни ( $T_{ПД} = 10$ ).

$$T_K = \frac{365}{365 - 52 - 10} = 1,205$$

Таблица 5.2 - Трудозатраты на выполнение проекта

Этап	Исполнители	Продолжительность работ, дни			Трудоемкость работ по исполнителям чел.- дн.			
					$T_{\text{рд}}$		$T_{\text{кд}}$	
		$t_{\min}$	$t_{\max}$	$t_{\text{ож}}$	НР	И	НР	И
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Постановка задачи	НР, И	3	5	3,8	4,18	1,25	5,04	1,51
Разработка и утверждение технического задания (ТЗ)	НР	3	4	3,4	3,57	–	4,3	–
Подбор и изучение материалов по тематике	И	14	17	15,2	–	16,72	–	20,15
Разработка календарного плана	НР, И	2	4	2,8	3,36	1,01	4,05	1,22
Обсуждение литературы	НР, И	5	7	5,8	2,78	6,96	3,35	8,39
Выбор структурной схемы устройства	НР, И	7	14	9,8	11,76	9,41	14,17	11,34
Выбор принципиальной схемы устройства	НР, И	7	14	9,8	11,76	9,41	14,17	11,34
Расчет принципиальной схемы устройства	И	8	14	10,4	–	11,44	–	13,79
Проведение экспериментов	НР, И	14	20	16,4	5,9	19,68	7,11	23,71

Продолжение таблицы 5.2

Оформление расчетно- пояснительной записки	И	7	14	9,8	–	10,78	–	12,99
Оформление графического материала	И	5	6	5,4	–	5,94	–	7,16
Подведение итогов	НР, И	7	10	8,2	5,9	9,84	7,11	11,86
<b>Итого:</b>				<b>100,8</b>	<b>49,21</b>	<b>102,4</b>	<b>59,3</b>	<b>123,4</b>

Таблица 5.3 - Линейный график работ

Этап	НР	И	Февраль			Март			Апрель			Май			Июнь	
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140
1	5,04	1,51														
2	4,3	–														
3	–	20,15														
4	4,05	1,22														
5	3,35	8,39														

Продолжение таблицы 5.3

6	14,17	11,34													
7	14,17	11,34													
8	–	13,79													
9	7,11	23,71													
10	–	12,99													
11	–	7,16													
12	7,11	11,86													

HP ; И –  ;

### 5.1.2. Расчет накопления готовности проекта

Данный раздел предусматривает оценку текущих результатов работы над проектом. Величина накопления готовности работы показывает, на сколько процентов по окончании текущего этапа выполнен общий объем работ по проекту в целом[45].

Введем обозначения:

- $TP_{\text{общ}}$  – общая трудоемкость проекта;
- $TP_i$  ( $TP_k$ ) – трудоемкость  $i$ -го ( $k$ -го) этапа проекта,  $i = \overline{1,12}$ ;
- $TP_i^H$  – накопленная трудоемкость  $i$ -го этапа проекта по его завершении;
- $TP_{ij}$  ( $TP_{kj}$ ) – трудоемкость работ, выполняемых  $j$ -м участником на  $i$ -м этапе, здесь  $j = \overline{1,2}$  – индекс исполнителя.

Степень готовности определяется по формуле:

$$CG_i = \frac{TP_i^H}{TP_{\text{общ}}} = \frac{\sum_{k=1}^i TP_k}{TP_{\text{общ}}} = \frac{\sum_{k=1}^i \sum_{j=1}^m TP_{km}}{\sum_{k=1}^I \sum_{j=1}^m TP_{km}}. \quad (5.5)$$

Применительно к таблице (5.2.) величины  $TP_{ij}$  ( $TP_{kj}$ ) находятся в столбцах (6,  $j = 1$ ) и (7,  $j = 2$ ).  $TP_{\text{общ}}$  равна сумме чисел из итоговых клеток этих столбцов.

Таблица 5.4 - Нарастание технической готовности работы и удельный вес каждого этапа

Этап	$TP_i$ , %	$CG_i$ , %
Постановка задачи	3,58	3,58
Разработка и утверждение технического задания (ТЗ)	2,35	5,93
Подбор и изучение материалов по тематике	11,03	16,96
Разработка календарного плана	2,88	19,84
Обсуждение литературы	6,42	26,26
Выбор структурной схемы устройства	13,96	40,22
Выбор принципиальной схемы устройства	13,96	54,18



Продолжение таблицы 5.4

Расчет принципиальной схемы устройства	7,55	61,73
Проведение экспериментов	16,87	78,6
Оформление расчетно-пояснительной записки	7,11	85,71
Оформление графического материала	3,92	89,63
Подведение итогов	10,38	100.00

## 5.2. Расчет сметы затрат на выполнение проекта

В состав затрат на создание проекта включается величина всех расходов, необходимых для реализации комплекса работ, составляющих содержание данной разработки. Расчет сметной стоимости ее выполнения производится по следующим статьям затрат:

- материалы и покупные изделия;
- заработная плата;
- социальный налог;
- расходы на электроэнергию (без освещения);
- амортизационные отчисления;
- командировочные расходы;
- оплата услуг связи;
- арендная плата за пользование имуществом;
- прочие услуги (сторонних организаций);
- прочие (накладные расходы) расходы.

### 5.2.1. Расчет затрат на материалы

К данной статье расходов относится стоимость материалов, покупных изделий, полуфабрикатов и других материальных ценностей, расходуемых непосредственно в процессе выполнения работ. Цена материальных ресурсов определяется по соответствующим ценникам и приведена в таблице 5.5.

Кроме того статья включает так называемые транспортно-заготовительные расходы, связанные с транспортировкой от поставщика к

потребителю, хранением и прочими процессами, обеспечивающими движение (доставку) материальных ресурсов от поставщиков к потребителю.

Таблица 5.5 - Расчет затрат на материалы

Наименование материалов	Кол-во	Цена за ед., руб.	Сумма, руб.
Бумага для принтера формата А4	1 уп.	150	150
Микроконтроллер АТmega8535	1	100	100
Микросхема КР 140 УД7	3	20	60
Переключатель	4	20	80
Транзисторы	3	5	15
Корпус	1	150	150
Резисторы	32	0,5	16
Конденсаторы	23	3	69
Радиатор	1	10	10
Печатные платы	2	50	100
Предохранитель	2	3	6
Индикатор	5	20	100
Резисторы подстроечные	10	15	150
Трансформаторы	1	120	120
ИК-светодиод	3	5	15
Фотодиод	2	20	40
Стабилитроны	1	6	6
Выпрямительные мосты	3	5	15
Стабилизаторы	4	150	600
Припой ПОС-61	0.05	55	2.7
Пипетки	100	0,8	80
Кюветы	20	10	200
		<b>Итого:</b>	<b>2084,7</b>

Допустим, что ТЗР составляют 5 % от отпускной цены материалов, тогда расходы на материалы с учетом ТЗР равны  $C_{\text{мат}} = 2084,7 * 1,05 = 2188,9$  руб.

### 5.2.2. Расчет заработной платы

Данная статья расходов включает заработную плату научного руководителя и инженера, а также премии, входящие в фонд заработной платы. Расчет основной заработной платы выполняется на основе трудоемкости выполнения каждого этапа и величины месячного оклада исполнителя. Среднедневная тарифная заработная плата ( $ЗП_{\text{дн-т}}$ ) рассчитывается по формуле[45]:

$$ЗП_{\text{дн-т}} = МО/24,83 \quad (5.6)$$

учитывающей, что в году 298 рабочих дней и, следовательно, в месяце в среднем 24,83 рабочих дня (при шестидневной рабочей неделе).

Расчеты затрат на полную заработную плату приведены в таблице 5.6. Затраты времени по каждому исполнителю в рабочих днях с округлением до целого взяты из таблицы 5.2. Для учета в ее составе премий, дополнительной зарплаты и районной надбавки используется следующий ряд коэффициентов:  $K_{\text{ПР}} = 1,1$ ;  $K_{\text{доп.ЗП}} = 1,188$ ;  $K_{\text{р}} = 1,3$ . Таким образом, для перехода от тарифной (базовой) суммы заработка исполнителя, связанной с участием в проекте, к соответствующему полному заработку (зарплатной части сметы) необходимо первую умножить на интегральный коэффициент  $K_{\text{и}} = 1,1 * 1,188 * 1,3 = 1,699$ .

Таблица 5.6 - Затраты на заработную плату

Исполнитель	Оклад, руб./мес.	Среднедневная ставка, руб./раб.день	Затраты времени, раб.дни	Коэффициент	Фонд з/платы, руб.
НР	23 264,86	936,97	49	1,699	78003,69
И	14 584,32	587,37	102	1,62	97057,02
<b>Итого:</b>					<b>175060,71</b>

### 5.2.3. Расчет затрат на социальный налог

Затраты на единый социальный налог (ЕСН), включающий в себя отчисления в пенсионный фонд, на социальное и медицинское страхование, составляют 30 % от полной заработной платы по проекту, т.е.  $C_{\text{соц.}} = C_{\text{зп}} * 0,3$ [45]. Итак, в нашем случае  $C_{\text{соц.}} = 175060,71 * 0,3 = 52518,213$  руб.

#### 5.2.4. Расчет затрат на электроэнергию

Данный вид расходов включает в себя затраты на электроэнергию, потраченную в ходе выполнения проекта на работу используемого оборудования, рассчитываемые по формуле[45]:

$$C_{\text{эл.об.}} = P_{\text{об}} \cdot t_{\text{об}} \cdot \text{Ц}_{\text{Э}} \quad (5.7)$$

где  $P_{\text{об}}$  – мощность, потребляемая оборудованием, кВт;

$\text{Ц}_{\text{Э}}$  – тариф на 1 кВт·час;

$t_{\text{об}}$  – время работы оборудования, час.

Для ТПУ  $\text{Ц}_{\text{Э}} = 5,257$  руб./кВт·час (с НДС).

Время работы оборудования вычисляется на основе итоговых данных таблицы 1.2 для инженера ( $T_{\text{рд}}$ ) из расчета, что продолжительность рабочего дня равна 8 часов:

$$t_{\text{об}} = T_{\text{рд}} \cdot K_t, \quad (5.8)$$

где  $K_t \leq 1$  – коэффициент использования оборудования по времени, равный отношению времени его работы в процессе выполнения проекта к  $T_{\text{рд}}$ , определяется исполнителем самостоятельно. В ряде случаев возможно определение  $t_{\text{об}}$  путем прямого учета, особенно при ограниченном использовании соответствующего оборудования.

Мощность, потребляемая оборудованием, определяется по формуле:

$$P_{\text{об}} = P_{\text{ном.}} \cdot K_c \quad (5.9)$$

где  $P_{\text{ном.}}$  – номинальная мощность оборудования, кВт;

$K_c \leq 1$  – коэффициент загрузки, зависящий от средней степени использования номинальной мощности. Для технологического оборудования малой мощности  $K_c = 1$ .

Таблица 5.7 - Затраты на электроэнергию технологическую

Наименование оборудования	Время работы оборудования $t_{\text{об}}$ , час	Потребляемая мощность $P_{\text{об}}$ , кВт	Затраты $\text{Э}_{\text{об}}$ , руб.
Персональный компьютер	667,04*0,81	0,3	852,11

### Продолжение таблицы 5.7

<b>Фотометрическая установка</b>	399,52*0,5	0,6	630,08
<b>Автоматический гематологический анализатор</b>	157,44*0,19	0,72	113,22
<b>Итого:</b>			<b>1595,41</b>

#### 5.2.5. Расчет амортизационных расходов

В статье «Амортизационные отчисления» рассчитывается амортизация используемого оборудования за время выполнения проекта.

Используется формула[45]:

$$C_{AM} = \frac{H_A * Ц_{ОБ} * t_{рф} * n}{F_D}, \quad (5.10)$$

где  $H_A$  – годовая норма амортизации единицы оборудования;

$Ц_{ОБ}$  – балансовая стоимость единицы оборудования с учетом ТЗР.;

$F_D$  – действительный годовой фонд времени работы соответствующего оборудования, берется из специальных справочников или фактического режима его использования в текущем календарном году. При этом второй вариант позволяет получить более объективную оценку  $C_{AM}$ .

$t_{рф}$  – фактическое время работы оборудования в ходе выполнения проекта, учитывается исполнителем проекта;

$n$  – число задействованных однотипных единиц оборудования.

При использовании нескольких типов оборудования расчет по формуле делается соответствующее число раз, затем результаты суммируются.

Таблица 5.8 - Амортизация используемого оборудования за время выполнения проекта

Наименование оборудования	$H_A$	$\text{Ц}_{\text{об}}, \text{руб}$	$t_{\text{рф}}, \text{ч.}$	$F_d, \text{ч.}$	$n$	$\text{С}_{\text{ам}}, \text{руб.}$
Персональный компьютер	0,4	45000	667,04	2384	1	5036,38
Фотометрическая установка	0,4	5000	399,52	1000	1	799,04
Автоматический гематологический анализатор	0,4	<b>51 000</b>	157,44	1000	1	3211,78
<b>Итого:</b>						<b>9047,2</b>

#### 5.2.6. Расчет расходов, учитываемых непосредственно на основе платежных (расчетных) документов (кроме суточных)

Сюда относятся:

- командировочные расходы, в т.ч. расходы по оплате суточных, транспортные расходы, компенсация стоимости жилья;
- арендная плата за пользование имуществом;
- оплата услуг связи;
- услуги сторонних организаций.

Норма оплаты суточных – 100 руб./день.

Во время работы над данным проектом командировок не совершалось, необходимые приборы были в открытом доступе, почтовые и консалтинговые услуги также не совершались. Таким образом, по данной статье расходов не было.

#### 5.2.7. Расчет прочих расходов

В статье «Прочие расходы» отражены расходы на выполнение проекта, которые не учтены в предыдущих статьях, их следует принять равными 10% от суммы всех предыдущих расходов, т.е.

$$C_{\text{проч.}} = (C_{\text{мат}} + C_{\text{зп}} + C_{\text{соц}} + C_{\text{эл.об.}} + C_{\text{ам}} + C_{\text{нп}}) \cdot 0,1$$

$$C_{\text{проч.}} = (2188,9 + 175060,71 + 52518,21 + 1595,41 + 9047,2 + 0) \cdot 0,1 = 24040,74 \text{руб.}$$

### 5.2.8. Расчет общей себестоимости разработки

Проведя расчет по всем статьям сметы затрат на разработку, можно определить общую себестоимость проекта «Разработка метода и устройства для исследования агрегации эритроцитов в микрообъемах».

Таблица 5.9 - Амортизация используемого оборудования за время выполнения проекта

Статья затрат	Условное обозначение	Сумма, руб.
Материалы и покупные изделия	$C_{\text{мат}}$	2188,9
Основная заработная плата	$C_{\text{зп}}$	175060,71
Отчисления в социальные фонды	$C_{\text{соц}}$	52518,21
Расходы на электроэнергию	$C_{\text{эл.}}$	1595,41
Амортизационные отчисления	$C_{\text{ам}}$	9047,2
Непосредственно учитываемые расходы	$C_{\text{нр}}$	0
Прочие расходы	$C_{\text{проч}}$	24040,74
<b>Итого:</b>		<b>264451,17</b>

Таким образом, затраты на разработку составили  $C = 264451,17$ руб.

### 5.2.9. Расчет прибыли

Прибыль от реализации проекта в зависимости от конкретной ситуации (масштаб и характер получаемого результата, степень его определенности и коммерциализации, специфика целевого сегмента рынка и т.д.) может определяться различными способами.

В случае отсутствия данных для применения «сложных» методов, прибыль следует принять в размере  $5 \div 20 \%$  от полной себестоимости проекта. Для данного проекта она составляет 52890,23 руб. (20 %) от расходов на разработку проекта.

#### **5.2.10. Расчет НДС**

НДС составляет 18% от суммы затрат на разработку и прибыли. В нашем случае это  $(264451,17 + 52890,23) * 0,18 = 57121,45$  руб.

#### **5.2.11. Цена разработки НИР**

Цена равна сумме полной себестоимости, прибыли и НДС, в нашем случае[45]:

$$C_{\text{НИР(КР)}} = 264451,17 + 52890,23 + 57121,45 = 374462,85 \text{ руб.}$$

Инвестиции предполагают расширение функциональных возможностей их объектов, влияя на многие стороны их деятельности. Посредством правильной инвестиционной политики организации достигают своих стратегических и тактических целей, таких как проникновение на рынок, увеличение доли рынка, рост доходности и т.д.

### **5.3. Оценка экономической эффективности проекта**

Оценка экономической эффективности предполагает определение количественного и качественного анализа инвестиционного проекта, что позволяет определить перспективность данного исследования, а также определить сроки окупаемости вложенных в проект инвестиций.

Для проведения количественного анализа используется ряд расчетных показателей, связанных с последствиями осуществления проекта для федерального, регионального и местного бюджетов, результатами реализации проекта с точки зрения интересов всего народного хозяйства, а также финансовыми последствиями проекта для его участников.

В рамках данной ВКР проводилось исследование по разработке лабораторного устройства и метода для оценки агрегационной способности эритроцитов человека. Данный параметр можно отнести к общей диагностике организма, схожей с общим анализом крови, который дает понятие о состоянии организма, наличии воспалительных процессов. В будущем предполагается, что данное устройство будет перспективным для медицинских организаций благодаря сокращению времени определения параметра агрегации,



сокращению объема необходимой пробы, а также позволит на ранней стадии определить наличие каких-либо возбудителей в организме человека.

Поскольку данная работа представляет интеллектуальную собственность, а продажа данной собственности либо воплощение устройства в жизнь требует дополнительных исследований и экспертных оценок, провести экономический анализ эффективности проекта крайне сложно, возникает необходимость проведения дополнительной работы, выходящей за рамки данного исследования.